

**Titre:** Développement d'un bioréacteur séquentiel à sol immobilisé pour le traitement de solutions riches en pentachlorophénol et en agent tensioactif  
**Title:**

**Auteur:** Christine Gauthier  
**Author:**

**Date:** 1996

**Type:** Mémoire ou thèse / Dissertation or Thesis

**Référence:** Gauthier, C. (1996). Développement d'un bioréacteur séquentiel à sol immobilisé pour le traitement de solutions riches en pentachlorophénol et en agent tensioactif [Mémoire de maîtrise, École Polytechnique de Montréal]. PolyPublie.  
**Citation:** <https://publications.polymtl.ca/8975/>

 **Document en libre accès dans PolyPublie**  
Open Access document in PolyPublie

**URL de PolyPublie:** <https://publications.polymtl.ca/8975/>  
**PolyPublie URL:**

**Directeurs de recherche:**  
**Advisors:**

**Programme:** Non spécifié  
**Program:**

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

DÉVELOPPEMENT D'UN BIORÉACTEUR SÉQUENTIEL À SOL IMMOBILISÉ  
POUR LE TRAITEMENT DE SOLUTIONS RICHES EN PENTACHLOROPHÉNOL  
ET EN AGENT TENSIOACTIF

CHRISTINE GAUTHIER  
DÉPARTEMENT DE GÉNIE CHIMIQUE  
ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

MÉMOIRE PRÉSENTÉ EN VUE DE L'OBTENTION  
DU DIPLÔME DE MAÎTRISE ÈS SCIENCES APPLIQUÉES  
(GÉNIE CHIMIQUE)  
DÉCEMBRE 1996



National Library  
of Canada

Acquisitions and  
Bibliographic Services

395 Wellington Street  
Ottawa ON K1A 0N4  
Canada

Bibliothèque nationale  
du Canada

Acquisitions et  
services bibliographiques

395, rue Wellington  
Ottawa ON K1A 0N4  
Canada

*Your file Votre référence*

*Our file Notre référence*

The author has granted a non-exclusive licence allowing the National Library of Canada to reproduce, loan, distribute or sell copies of this thesis in microform, paper or electronic formats.

The author retains ownership of the copyright in this thesis. Neither the thesis nor substantial extracts from it may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

L'auteur a accordé une licence non exclusive permettant à la Bibliothèque nationale du Canada de reproduire, prêter, distribuer ou vendre des copies de cette thèse sous la forme de microfiche/film, de reproduction sur papier ou sur format électronique.

L'auteur conserve la propriété du droit d'auteur qui protège cette thèse. Ni la thèse ni des extraits substantiels de celle-ci ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans son autorisation.

0-612-26473-4

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

Ce mémoire intitulé:

DÉVELOPPEMENT D'UN BIORÉACTEUR SÉQUENTIEL À SOL IMMOBILISÉ  
POUR LE TRAITEMENT DE SOLUTIONS RICHES EN PENTACHLOROPHÉNOL  
ET EN AGENT TENSIOACTIF

présenté par: GAUTHIER, Christine

en vue de l'obtention du diplôme de: Maîtrise ès sciences appliquées

a été dûment accepté par le jury d'examen constitué de:

M. PERRIER, Michel, Ph.D., président

M. SAMSON, Réjean, Ph.D., membre et directeur de recherche

M. CHAVARIE, Claude, Ph.D., membre et codirecteur de recherche

M. COMEAU, Yves, Ph.D., membre

## Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier mon directeur de recherche, Réjean Samson, pour avoir accepté de me faire confiance en me permettant de réaliser ce projet au sein d'une équipe de recherche dynamique, ainsi que pour sa disponibilité dans les moments cruciaux et pour m'avoir transmis sa vision de la recherche. Également, je tiens à remercier mon co-directeur de recherche, Claude Chavarie qui a réussi à libérer quelques heures de son agenda bien occupé pour me faire partager ses connaissances et sa science.

Je tiens à remercier particulièrement Louise Deschênes qui, par son encouragement, sa compréhension, sa grande disponibilité et sa ténacité, a su me faire partager son savoir scientifique tout en me guidant tout au long de ce projet. Également, un gros merci à Manon Leduc pour son aide lors de problèmes techniques et de logistiques, Dimitar Karamanev pour ses conseils théoriques, François Roberge pour sa disponibilité lors des conceptions de montages et pour son imagination et Sandra Estrela pour son aide à certains moments critiques.

Je tiens par la suite à remercier tous les partenaires industriels de chaire CRSNG sur les bioprocédés d'assainissement des sites pour leur support financier, sans lequel ce projet n'aurait pas eu lieu.

Un merci spécial à mes nombreux collègues et amis de la chaire avec qui il a toujours été agréable de partager nos connaissances et qui ont su créer une ambiance agréable de travail. Finalement, je tiens à remercier ma famille que j'aime beaucoup et qui, malgré la distance, a toujours su m'apporter un support moral et des encouragements dans les moments plus difficiles.

## Résumé

Le traitement en place des sols contaminés par des polluants récalcitrants à la biodégradation peut être effectué par un procédé de lavage *in situ* utilisant des agents tensioactifs. Ces derniers permettent une désorption des contaminants du sol et une augmentation de leur solubilité dans l'eau. Les eaux de lavage riches en surfactant sont donc contaminées par des composés souvent difficilement biodégradables. Par ailleurs, les agents tensioactifs peuvent être toxiques pour les microorganismes dégradeurs des polluants ou encore entrer en compétition avec ceux-ci comme substrats, ce qui entraîne des problèmes lors du traitement des eaux en surface. Par conséquent, des bioréacteurs doivent être conçus en prenant en considération cette problématique des solutions de lavage contenant une contamination mixte. Ce projet a donc pour but le développement d'un bioréacteur séquentiel qui permet le traitement d'une solution d'un surfactant chimique, le Witconol SN 70, contaminée par un polluant, en l'occurrence le pentachlorophénol (PCP). Le Witconol SN 70, un agent tensioactif de type alkoxy alcool, reconnu comme non toxique, a été choisi car il a été montré efficace et économique pour le lavage de sols contaminés.

Un bioréacteur de type gazo-siphon à sol immobilisé a été utilisé pour réaliser les différentes expériences de biodégradation du PCP et du Witconol SN 70. De même, l'interférence entre le PCP et le Witconol SN 70 a été réalisée principalement en microcosmes utilisant des radioisotopes. Le suivi du PCP a été réalisé par HPLC et par spectrophotométrie, tandis que le Witconol SN 70 a été quantifié par HPLC et par tensiométrie.

Les expériences sur l'interférence du Witconol SN 70 sur la biodégradation du PCP ont montré que la concentration critique de Witconol SN 70, pour laquelle la biodégradation du PCP (20 mg/l) a été complètement inhibée se situait autour de 450 mg/l. Cependant, le Witconol SN 70 a été biodégradé par les microorganismes du sol à toutes les concentrations de surfactant étudiées (de 90 à 900 mg/l).

L'adaptation des microorganismes dégradant le PCP et le Witconol SN 70 a été réalisée séparément dans deux bioréacteurs gazo-siphon à sols activés immobilisés. Les résultats ont montré que le Witconol SN 70 et le PCP (utilisés séparément) étaient facilement biodégradés par les microorganismes immobilisés sur les supports poreux. Lorsque le bioréacteur a été utilisé en mode semi-continu, le taux de biodégradation du PCP a atteint 29 mg/l-h, alors que la dégradation du Witconol SN 70 atteignait environ 18 mg/l-h. Cependant, lorsque le PCP et le Witconol SN 70 ont été traités simultanément dans le même réacteur, une légère inhibition de la dégradation du PCP est apparue à des concentrations en surfactant supérieures à 153 mg/l.

Ces résultats suggèrent que la biodégradation simultanée du PCP et du Witconol SN 70 dans un bioréacteur complètement mélangé est impossible si la concentration des deux composés est importante. Basé sur ces résultats, un bioréacteur séquentiel de 45 litres, utilisant quatre sections gazo-siphons séparées par des membranes poreuses amovibles, a été construit. Le principe de ce bioréacteur en fait un procédé prometteur pour le traitement des solutions de lavage à contamination mixte.

## Abstract

The on-site treatment of soils contaminated with pollutants that are recalcitrant to biodegradation can be realized by an *in situ* soil washing process using surfactants. These agents allow desorption of the soil contaminants and increase their water solubility. However, the water used for the washing process contains high concentrations of pollutants and surfactants, and is often difficult to treat by biological processes. In fact, surfactants may be toxic to the pollutant-degrading microorganisms or act as competing substrate, leading to the reduction of the pollutant biodegradation efficiency. Consequently, it is important to consider this problem if bioreactors are used for the treatment of soil washing solutions containing mixed contaminants. The aim of this project is to develop a sequential bioreactor, allowing the treatment of an aqueous solution containing a chemical surfactant, Witconol SN 70, and a pollutant, pentachlorophenol (PCP). Witconol SN 70, an ethoxylated alcohol, regarded as non-toxic, has been chosen for its efficiency and its economic viability.

The experiments on biodegradation of both compounds (PCP and Witconol SN 70) were conducted in an air-lift bioreactor containing immobilized soil. A microcosm experiment using radiolabelled PCP was performed to verify if the presence of the studied surfactant would interfere with the PCP biodegradation. Concentrations of PCP have been determined by HPLC and spectrophotometry and concentrations of Witconol SN 70 by HPLC and surface tension measurement.

Preliminary results showed that the critical concentration of Witconol SN 70, at which the biodegradation of PCP (20 mg/L) was completely inhibited, was about 450 mg/l. Therefore, in order to ensure a significant PCP biodegradation efficiency, it is important



to reduce the surfactant concentration below this value. On the other hand, Witconol SN 70 was shown to be biodegraded by the soil microorganisms for all surfactant concentrations studied (from 90 to 900 mg/l).

The adaptation of both PCP- and Witconol SN 70-degrading microorganisms was achieved separately in two air-lift bioreactors containing immobilized activated soil. The design of these reactors is based on two different concepts: first, the use of an optimized microbial catalyst (activated soil) for the degradation of both PCP and the surfactant and second, a new bioreactor design characterized by the immobilization of the activated soil on a porous membrane. The results have shown that Witconol SN 70 and PCP (used separately) were easily biodegraded by the microorganisms immobilized on porous supports. When the bioreactor was used in fed-batch mode, the biodegradation rates reached 29 mg/l-h for PCP and 18 mg/l-h for Witconol SN 70. However, when PCP and Witconol SN 70 were treated simultaneously in the same reactor, a slight inhibition of PCP biodegradation appeared for surfactant concentrations over 153 mg/l.

These results suggested that the simultaneous biodegradation of PCP and Witconol SN70 is not effective in a completely mixed bioreactor in the case where both compound concentrations are high. Based on these results, a 45 L sequential bioreactor has been constructed, using four air-lift sections separated by mobile porous membranes. The separated sections will allow the reduction of the surfactant concentration prior to the biodegradation of PCP. The principle of this bioreactor is promising for the treatment of soil washing solutions containing a mixed contamination.

# Table des matières

REMERCIEMENTS .....	IV
RÉSUMÉ .....	V
ABSTRACT .....	VII
TABLE DES MATIÈRES.....	IX
LISTE DES FIGURES.....	XIII
LISTE DE TABLEAUX.....	XV
LISTE DE ANNEXES .....	XVI
LISTE DES NOTATIONS ET SYMBOLES.....	XVII
INTRODUCTION .....	I
PROBLÉMATIQUE.....	1
HYPOTHÈSE DE RECHERCHE.....	3
OBJECTIFS .....	3
CHAPITRE 1: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE .....	5
1.1 LE PENTACHLOROPHÉNOL .....	6
1.1.1 Propriétés physico-chimiques.....	6
1.1.2 Biodégradation du pentachlorophénol.....	7
1.1.2.1 Mécanismes.....	8
1.1.2.2 Facteurs influençant la biodégradation du pentachlorophénol.....	9
1.2 PROCÉDÉS DE LAVAGE DE SOL <i>IN SITU</i> .....	12
1.2.1 Le procédé .....	12
1.2.2 Les agents tensioactifs.....	15

1.2.2.1 Propriétés .....	17
1.2.2.2 Effets des agents tensioactifs sur la mobilisation des contaminants.....	18
1.2.2.3 Effet des agents tensioactifs sur la biodégradation des contaminants .....	20
1.3 TRAITEMENT DES EAUX DE LAVAGE.....	23
1.3.1 Technologies existantes.....	23
1.3.2 Réacteur à sol immobilisé .....	25
1.3.2.1 Sols activés.....	26
1.3.2.2 Principes et propriétés du réacteur à sol immobilisé.....	26
1.3.2.3 La théorie des biofilms.....	30
1.3.2.3.1 Définition .....	30
1.3.2.3.2 Composition .....	31
CHAPITRE 2: MATÉRIEL ET MÉTHODES .....	33
2.1 LES PRODUITS CHIMIQUES.....	34
2.1.1 agent tensioactif.....	34
2.1.2 pentachlorophénol .....	34
2.1.3 Milieu salin minéral.....	35
2.1.4 solvants .....	35
2.2 LE SOL .....	36
2.3 MISE AU POINT D'UNE MÉTHODE DE QUANTIFICATION DE L'AGENT TENSIOACTIF .....	37
2.3.1 Analyse par chromatographie liquide à haute performance en phase inverse (HPLC).....	37
2.3.2 Concentration des échantillons par colonne d'extraction en phase solide.....	39
2.3.3 Tensiométrie .....	40
2.3.3.1 La concentration micellaire critique (CMC) .....	40
2.3.3.2 La dilution micellaire critique (DMC) .....	42
2.4 INTERACTIONS ENTRE LE PENTACHLOROPHÉNOL ET LE WITCONOL SN 70 ..	43
2.4.1 Présence d'un consortium bactérien dégradant le PCP .....	43
2.4.2 Biodégradabilité du Witconol SN 70 .....	45
2.4.3 Description du bioréacteur à sol immobilisé en colonne .....	46
2.4.3.1 Choix du géotextile approprié.....	48
2.4.3.2 Influence de la présence du Witconol SN 70 sur la biodégradation du PCP.....	49

2.4.3.3 Le suivi du bioréacteur.....	50
2.4.3.3.1 La chromatographie liquide à haute performance (HPLC) pour l'analyse du PCP .....	51
2.4.3.3.2 La spectrophotométrie.....	52
2.4.4 Expérience en bioréacteur séquentiel à sol immobilisé .....	53
2.4.4.1 Activation des consortium bactériens pour la biodégradation du PCP et du Witconol SN 7053	
2.4.4.2 Expérience en bioréacteur séquentiel.....	54
CHAPITRE 3: SÉLECTION ET CARACTÉRISATION D'UN AGENT TENSIOACTIF .....	56
3.1 CHOIX D'UN AGENT TENSIOACTIF PERMETTANT UN LAVAGE EFFICACE DE SOLS CONTAMINÉS AU PCP .....	57
3.2 DÉVELOPPEMENT D'UNE MÉTHODE DE QUANTIFICATION DE L'AGENT TENSIOACTIF .....	60
3.2.1 Précision et reproductibilité de la méthode d'analyse par HPLC pour le Witconol SN 70 .....	60
3.2.2 Concentration des échantillons.....	62
3.2.3 Analyse par tensiométrie.....	63
3.3 PROPRIÉTÉS DU WITCONOL SN 70 .....	65
3.3.1 Concentration micellaire critique du Witconol SN 70 .....	65
3.3.2 Biodégradabilité du Witconol SN 70 .....	66
3.4 CONCLUSION .....	69
CHAPITRE 4: ÉTUDE DES INTERACTIONS ENTRE LE PCP ET LE WITCONOL SN 70 .....	70
4.1 CHOIX DU SYSTÈME D'ÉTUDE.....	71
4.1.1 Immobilisation des microorganismes.....	71
4.1.2 Consortium microbien .....	72
4.1.3 Comportement hydraulique .....	73
4.2 BIODÉGRADATION DU PCP .....	74
4.2.1 Le sol .....	74
4.2.2 Présence d'un consortium microbien dégradant le PCP dans le sol choisi.....	75
4.2.3 Choix du géotextile approprié .....	78
4.2.4 Adaptation des microorganismes dégradeurs de PCP en bioréacteur à colonne.....	79

4.3 BIODÉGRADATION DU WITCONOL SN 70.....	84
4.3.1 Adaptation des microorganismes dégradeurs de Witconol SN 70 en bioréacteur à colonne.....	84
4.3.2 Effet de l'aération sur la perte par bullage .....	89
4.4 INHIBITION DE LA BIODÉGRADATION DU PCP PAR LE WITCONOL SN 70 .....	94
4.5 CONCLUSION .....	98
CHAPITRE 5: ESSAI PILOTE.....	99
5.1 ADAPTATION EN BIORÉACTEUR DES MICROORGANISMES POUR LA DÉGRADATION DU PCP ET DU WITCONOL SN 70.....	100
5.2 ESSAI EN BIORÉACTEUR SÉQUENTIEL À SOL IMMOBILISÉ.....	103
5.4 CONCLUSION .....	109
CONCLUSION GÉNÉRALE .....	110
RECOMMANDATIONS.....	112
OPTIMISATION DES PARAMÈTRES DE CONCEPTION DU BIORÉACTEUR SÉQUENTIEL .....	112
Adaptation et acclimatation du consortium bactérien .....	112
Nombre de sections pour chacun des contaminants.....	113
Le suivi .....	114
Comportement hydrodynamique .....	115
INFLUENCE DU CHANGEMENT DE CONTAMINANT ET D'AGENT TENSIOACTIF SUR LE COMPORTEMENT DES MICROORGANISMES .....	116
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	117
ANNEXES .....	130

## Liste des figures

Figure 1.1: Structure du pentachlorophénol.....	6
Figure 1.2: Voie métabolique du PCP ( <i>Source: Biodegradation/Biocatalysis Database, 1996</i> ) .....	9
Figure 1.3: Schématisation du procédé de lavage de sol <i>IN SITU</i> .....	13
Figure 1.4: Molécule d'agent tensioactif.....	15
Figure 1.5: Micelle sphérique .....	18
Figure 1.6: Schéma du procédé à contre-courant ( <i>Clarke et al. 1992</i> ) .....	25
Figure 1.7: Schéma du principe de fonctionnement du bioréacteur à sol immobilisé .....	29
Figure 1.8: Composantes du système biofilm.....	31
Figure 2.1: Chromatogramme du Witconol SN 70 à une concentration de 0,05 % (v/v), soit 450 mg/l, au HPLC .....	39
Figure 2.2: Schéma d'un microcosme .....	44
Figure 2.3: Schéma du bioréacteur en colonne .....	47
Figure 2.4: Chromatogramme du PCP à une concentration de 3 mg/l au HPLC .....	52
Figure 2.5: Photo du montage pour l'adaptation des microorganismes pour le PCP et le Witconol SN 70.....	54
Figure 2.6: Schéma du bioréacteur séquentiel à sol immobilisé.....	55
Figure 3.1: Courbe de calibration du Witconol SN 70 au HPLC .....	61
Figure 3.2: CMC du Witconol SN 70 (lot #P-5446).....	63
Figure 3.3: Biodégradabilité du Witconol SN 70 par les microorganismes d'un sol contaminé au PCP .....	66
Figure 3.4: Schématisation de la méthode analytique du Witconol SN 70 .....	69
Figure 4.1: Courbe granulométrique du sol recueilli sur le site d'Hydro-Québec .....	74
Figure 4.2: Courbe de minéralisation du PCP A) une semaine après l'échantillonnage, B) un mois et demi après l'échantillonnage .....	76
Figure 4.3: Biodégradation du PCP en bioréacteur en mode cuvée.....	80

Figure 4.4: Biodégradation du PCP en mode cuvée suite à une période de 6 mois de conservation des microorganismes dégradeurs.....	81
Figure 4.5: Acclimatation du PCP en bioréacteur en mode continu.....	82
Figure 4.6: Biodégradation du Witconol SN 70 en bioréacteur en mode cuvée.....	85
Figure 4.7: Phases de dégradation du Witconol SN 70 en bioréacteur.....	86
Figure 4.8: Photos du bioréacteur à colonne représentant la problématique de la mousse.....	87
Figure 4.9: Perte de Witconol SN 70 par bullage .....	88
Figure 4.10: Effet du débit d'aération sur la quantité de mousse produite par bullage A) 1500 cc/min, suivi par tensiométrie; B) 1500 cc/min suivi par HPLC; C) 150 cc/min, suivi par tensiométrie; D) 150 cc/min suivi par HPLC.....	90
Figure 4.11: Dégradation du Witconol SN 70 à un débit d'aération de 150 cc/min A) suivi par tensiométrie; B) témoin; C) suivi par HPLC; D) témoin.....	92
Figure 4.12: Influence de la concentration de Witconol SN 70 sur la biodégradation du PCP en microcosmes.....	95
Figure 4.13: Influence de faibles concentrations de Witconol SN 70 sur la biodégradation du PCP en bioréacteur.....	96
Figure 5.1: Adaptation des microorganismes pour la dégradation du PCP en mode cuvée.....	101
Figure 5.2: Schéma du bioréacteur séquentiel à sol immobilisé à 4 sections .....	104
Figure 5.3: Pochettes de sol .....	106
Figure 5.4: Schématisation de la circulation du liquide dans le bioréacteur.....	107
Figure 5.5: Volume mort et perturbations dans le bioréacteur .....	108

## Liste de tableaux

Tableau 1.1: Quelques propriétés physiques du pentachlorophénol.....	7
Tableau 1.2: Effets des paramètres environnementaux sur les microorganismes et les contaminants .....	10
Tableau 1.3: Caractéristiques des différentes catégories d'agents tensioactifs .....	16
Tableau 1.4: Exemple d'agent tensioactif représentant chacune des quatre catégories....	17
Tableau 2.1: Caractéristiques des géotextiles sélectionnés.....	48
Tableau 2.2: Paramètres expérimentaux de l'expérience sur l'influence de la présence de Witconol SN 70 sur la biodégradation du PCP.....	50
Tableau 3.1: Taux de récupération en colonne d'extraction en phase solide de différentes concentrations de Witconol SN 70 .....	62
Tableau 3.2: Résultats de l'expérience de DBO .....	67
Tableau 4.1: Caractérisation du sol recueilli sur le site d'Hydro-Québec .....	75
Tableau 4.2: Perméabilités au sol et à l'eau de trois géotextiles .....	78
Tableau 4.3: Influence de l'ajout de Witconol SN 70 sur la biodégradation du PCP en bioréacteur en mode cuvée.....	97



## Liste de annexes

ANNEXE A: FICHE SIGNALÉTIQUE DU WITCONOL SN 70 .....	131
ANNEXE B: CARACTÉRISATION DU SOL .....	132
ANNEXE C: CONCENTRATION DES ÉCHANTILLONS PAR COLONNE D'EXTRACTION EN PHASE SOLIDE .....	134
ANNEXE D: MÉTHODE D'ESSAI DES GÉOSYNTHÉTIQUES: PERMÉABILITÉ À L'EAU DANS UN SENS NORMAL SANS CHARGE DE COMPRESSION (CAN/CGSB-148.1 No 4-94).....	135
ANNEXE E: COURBE DE CALIBRATION DU SPECTROPHOTOMÈTRE.....	139
ANNEXE F: CMC DU WITCONOL SN 70, LOT #TK67-217 .....	140
ANNEXE G: LA PROBLÉMATIQUE DE LA MOUSSE .....	141

## Liste des notations et symboles

APE	Alkoxy alkylphénol
BPC	Biphényles polychlorés
$C_i$	Concentration du traceur dans l'effluent au temps $t_i$
$[^{14}\text{C}]\text{CO}_2$	Dioxyde de carbone uniformément marqué au carbone 14
$[^{14}\text{C}]\text{PCP}$	Pentachlorophénol uniformément marqué au carbone 14
CMC	Concentration micellaire critique
COV	Composés organiques volatils
D	Diamètre du bioréacteur
DBO	Demande biochimique en oxygène
DMC	Dilution micellaire critique
EO	Chaîne éther-oxyde
dpm	Désintégration par minute

<b>g</b>	<b>Force gravitationnelle</b>
<b>H</b>	<b>Hauteur de la membrane de géotextile</b>
<b>h</b>	<b>Hauteur verticale</b>
<b>HAP</b>	<b>Hydrocarbures aromatiques polycycliques</b>
<b>HPLC</b>	<b>Chromatographie liquide à haute performance</b>
<b>MSM</b>	<b>Milieu salin minéral</b>
<b>NaPCP</b>	<b>Pentachlorophénolate de sodium</b>
<b><math>p_a</math></b>	<b>Pression hydrostatique dans la partie aérée du bioréacteur</b>
<b><math>p_{na}</math></b>	<b>Pression hydrostatique dans la partie non aérée du bioréacteur</b>
<b>PCP</b>	<b>Pentachlorophénol</b>
<b>Pe</b>	<b>Nombre de Péclet</b>
<b>RI</b>	<b>Indice de réfraction</b>
<b>SDS</b>	<b>Dodecyle sulfate de sodium</b>
<b>t</b>	<b>Temps</b>

$\bar{t}$	Temps de résidence moyen
$u$	Vitesse d'écoulement du liquide
$U_v$	Vitesse d'écoulement verticale du liquide dans le bioréacteur
$U_h$	Vitesse d'écoulement horizontale du liquide dans le bioréacteur
UV	Rayons ultraviolets
$\varepsilon_G$	Fraction volumique du gaz
$\rho_L$	Masse volumique du liquide
$\Psi$	Permittivité de la membrane de géotextile
$\sigma_\theta^2$	Inverse du nombre de sections d'un bioréacteur
$\sigma^2$	Variance

# Introduction

## Problématique

Le PCP est un biocide très répandu. Il est utilisé dans divers domaines d'application tels que: agent antibactérien dans les désinfectants et les nettoyeurs; pesticide à large spectre; agent de conservation pour divers matériaux tels que peintures, cuir et autres peaux, textiles, boues de forage, solutions photographiques et enfin le bois (Jones, 1981). L'industrie cible pour cette étude est la préservation du bois. Le PCP a été introduit comme agent de conservation du bois à partir des années 40 (Arsenault, 1978). Les principales causes de contamination dans ce secteur sont l'écoulement des produits de traitement du bois sur le sol ainsi qu'une élimination inadéquate des déchets. Le sol est contaminé du fait que les surplus de solution tombent au sol lors du traitement à l'extérieur, lors de l'égouttage ou lors de l'entreposage du bois. L'eau de pluie ruisselle sur le sol et peut rejoindre les cours d'eau ou s'infiltrer dans le sol. Une étude de Jones (1983) rapporte que la production canadienne de pentachlorophénol s'élevait à environ 1700 tonnes en 1981. De même, au Québec seulement, plus de 45 000 litres (soit environ 90 tonnes) de pentachlorophénol étaient utilisés en 1987 pour le traitement du bois (Ministère de l'Environnement du Québec, 1989). Malgré l'interdiction de production et d'utilisation du PCP, sa nature récalcitrante et son utilisation de façon extensive dans les années 70 ont résulté en une contamination étendue des sols et des eaux souterraines au Canada et aux États-Unis (Hoos, 1978; Cirelli, 1978a; Mueller et al. 1991). Les aires d'égouttement des usines de préservation ainsi que les zones d'entreposage représentent les sites les plus probables pour contenir une contamination en PCP.

Une technologie peu coûteuse utilisée pour décontaminer de tels sites est le lavage de sol *IN SITU*. En effet, pour beaucoup de sites difficilement accessibles, le traitement *IN SITU*

est la seule voie de remédiation. Cependant, ces traitements sont souvent plus difficiles que ceux *EX SITU* parce qu'un contrôle complet des paramètres critiques tels que la température, le pH, et l'écoulement des différents fluides en présence est souvent impossible (Chawla et al. 1991).

Le lavage de sol *IN SITU* consiste à injecter une solution d'agent tensioactif dans la partie contaminée du sol, isolée par des palplanches ou des barrières hydrauliques pour ensuite récupérer les eaux de traitement à la surface. Le procédé de lavage de sol est applicable à plusieurs types de contamination tels que les BPC, les hydrocarbures pétroliers ou encore les métaux lourds tels le plomb et le zinc (Abdul et al. 1992; Bhandari et al. 1994; Cline et Reed, 1995; Davis et Singh, 1995). Stinson et al. (1992) ainsi que Tobia et al. (1994) ont utilisé un procédé de lavage *EX SITU* pour le traitement de sols contaminés au PCP et à la créosote. Ces dernières études figurent parmi les rares sur le lavage de sols contaminés au PCP. Le principal inconvénient de ce procédé est la production de solutions de lavage riches en PCP et en agent tensioactif. En effet, des études ont montré que la présence d'agent tensioactif peut nuire à une décontamination par voie biologique en inhibant la biodégradation des contaminants (Deschênes et al. 1995a; 1995b; Tiehm 1994).

Le Witconol SN 70 a été choisi pour ce projet car des études ont montré qu'il était un agent tensioactif efficace pour un lavage de sol contaminé aux BPC et dégradé par les microorganismes indigènes d'un sol lorsque présent en faibles concentrations (Abdul et al. 1992; Ang et Abdul, 1992). De plus, en comparaison avec d'autres surfactants, le Witconol SN 70 s'avère relativement économique.

Dans la littérature, la plupart des études de l'eau est utilisé comme solution lavante. La problématique concernant les eaux à contamination mixte est alors absente de ces études. Cependant, quelques auteurs ont étudié la séparation agent tensioactif-polluant. Les

procédés s'avérant les plus efficaces sont ceux développés par Lipe et al. (1996) et Clarke et al. (1992) utilisant principalement la séparation par bullage "air stripping".

Dans le cadre de ce projet, un traitement biologique a été retenu. Les charges en contaminants et en surfactants des eaux de lavage étant élevées, leur traitement par voie biologique nécessitera une acclimatation des microorganismes. Différentes études (Karamanev et al. 1996a; Otte et al. 1994; Moos et al. 1983; Rutgers et al. 1993) ont montré qu'une acclimatation des microorganismes dans un bioréacteur pouvait augmenter considérablement le taux de biodégradation du contaminant. Karamanev et al. (1996a) ont montré qu'une fois les microorganismes immobilisés sur un support solide, et adaptés dans des conditions optimales d'opération, un taux de dégradation pouvant aller jusqu'à 22 000 mg de PCP/l-jr pouvait être obtenu. Dans le cadre de ce projet, le bioréacteur à sol immobilisé développé par Karamanev et al. (1996a, 1996b) fera l'objet de diverses expériences.

#### Hypothèse de recherche

L'hypothèse générale sur laquelle est basée le présent projet s'énonce comme suit: en raison des grandes concentrations en agent tensioactif présentes dans les eaux de lavage, l'inhibition du Witconol SN 70 sur la biodégradation du PCP constitue une limitation au traitement en bioréacteur de solutions contaminées par ces produits.

#### Objectifs

Le but premier de ce projet est de caractériser l'interaction entre le PCP et un agent tensioactif, le Witconol SN 70, afin de développer un bioréacteur à sol immobilisé permettant de traiter les eaux provenant d'un procédé de lavage de sol récupérées en surface, soit des eaux à contamination mixte (PCP et Witconol SN 70).

En premier lieu, il est nécessaire de caractériser l'interférence entre l'agent tensioactif choisi, le Witconol SN 70, et le PCP lors d'une biodégradation par des microorganismes indigènes d'un sol contaminé au PCP. La seconde étape consiste à développer une méthode permettant la biodégradation du PCP et de l'agent tensioactif dans un même bioréacteur.

Afin de réaliser ce dernier objectif, les études suivantes doivent porter sur l'adaptation en bioréacteurs individuels des microorganismes indigènes d'un sol contaminé pour la biodégradation des contaminants en présence, soit le PCP et le Witconol SN 70, et la biodégradabilité concomitante des contaminants en réacteur. Finalement, un essai en bioréacteur séquentiel permettra de vérifier le potentiel de ce procédé.

Le présent document débute par une revue de la littérature concernant les différentes notions à connaître pour bien saisir le projet. Par la suite, la méthodologie des expériences réalisées pour atteindre les objectifs est décrite et une présentation ainsi qu'une discussion des résultats obtenus est réalisée en trois temps: sélection et caractérisation de l'agent tensioactif, interactions entre le PCP et le Witconol SN 70 et enfin essai pilote. Finalement, l'auteur donne ses recommandations pour des projets futurs.



## **Chapitre 1 : Revue bibliographique**

---

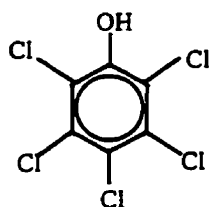
*Ce chapitre fait une revue de la littérature concernant les différents paramètres à approfondir pour bien cerner le présent projet. En premier lieu, les propriétés physico-chimiques du pentachlorophénol, le contaminant à l'étude ainsi que ses principes de biodégradation sont résumés. Par la suite, une description du procédé de lavage de sol combinée à un survol de la théorie sur les agents tensioactifs, nécessaire à la compréhension du fonctionnement du procédé, sont présentés. Enfin, la dernière partie porte sur le traitement des eaux de lavage, les technologies existantes en comparaison avec la technologie proposée dans le présent ouvrage.*

## 1.1 LE PENTACHLOROPHÉNOL

Le pentachlorophénol (PCP), un composé xénobiotique, est un des principaux constituants de plusieurs formules pour le traitement du bois utilisées dans l'industrie de la préservation du bois (Arcand et al. 1995; Edgehill, 1996; Jones, 1981; Kaufman, 1977; Seigle-Murandi et al. 1991). L'utilisation du PCP pour le traitement du bois peut occasionner une pollution dans l'environnement lors de déversements accidentels ou ponctuels. De même, une lixiviation du bois traité dans les aires d'entreposage de bois peut entraîner une contamination de façon continue. Ce polluant se retrouve donc principalement dans les sols et les eaux souterraines.

### **1.1.1 PROPRIÉTÉS PHYSICO-CHIMIQUES**

Le pentachlorophénol est un composé aromatique de la famille des chlorophénols, sa structure chimique est illustrée à la Figure 1.1. C'est un produit corrosif et toxique qui peut cependant être dégradé par la lumière du jour, les animaux, les plantes ainsi que par les microorganismes du sol. De même, le PCP et ses dérivés offrent les avantages d'avoir un grand potentiel biocide et une persistance limitée dans l'environnement (Crosby et al. 1981).



**Figure 1.1: Structure du pentachlorophénol**

Arcand et al. (1995) montrent que la solubilité du PCP varie en fonction du pH. En effet, ces auteurs constatent une augmentation de la solubilité lorsqu'il y a augmentation du pH. Le PCP étant un acide faible ( $pK_a=4,75$ ) lorsqu'il est dissous dans l'eau, il se retrouve

sous deux formes, la forme non dissociée (PCP<sup>0</sup>) et la forme dissociée anionique, le pentachlorophénolate (PCP<sup>-</sup>). Ces deux formes diffèrent dans leurs propriétés physico-chimiques, leur biodégradabilité ainsi que dans leur niveau de toxicité. La forme anionique du PCP est très soluble dans l'eau (PCPNa = 330 mg/l à 25°C; Jones, 1981) tandis que celle non dissociée a une solubilité limitée à 3 mg/l, à pH 6. Par conséquent, le PCP a une solubilité très limitée dans l'eau. Les principales propriétés physiques et chimiques du pentachlorophénol sont résumées au Tableau 1.1.

**Tableau 1.1: Quelques propriétés physiques du pentachlorophénol**

Propriété	Valeur
Masse molaire	266,36 g/mol
Point de fusion	190-191 °C
Point d'ébullition	293-319 °C, à 760 mm Hg
Pression de vapeur à 20 °C	1,1 X 10 <sup>-4</sup> mm Hg
à 100 °C	0,12 mm Hg
Constante de dissociation	5,5 X 10 <sup>-6</sup> (à 26 °C)
Constante d'Henry	2,8 X 10 <sup>-6</sup> atm·m <sup>3</sup> /mol
Solubilité dans l'eau	14 mg/l à pH 7
Masse spécifique	1,978 g/cm <sup>3</sup>
pK <sub>a</sub>	4,75

*Source: Gebefügi et al. (1979); et Huling et Weaver, (1991).*

### 1.1.2 BIODÉGRADATION DU PENTACHLOROPHÉNOL

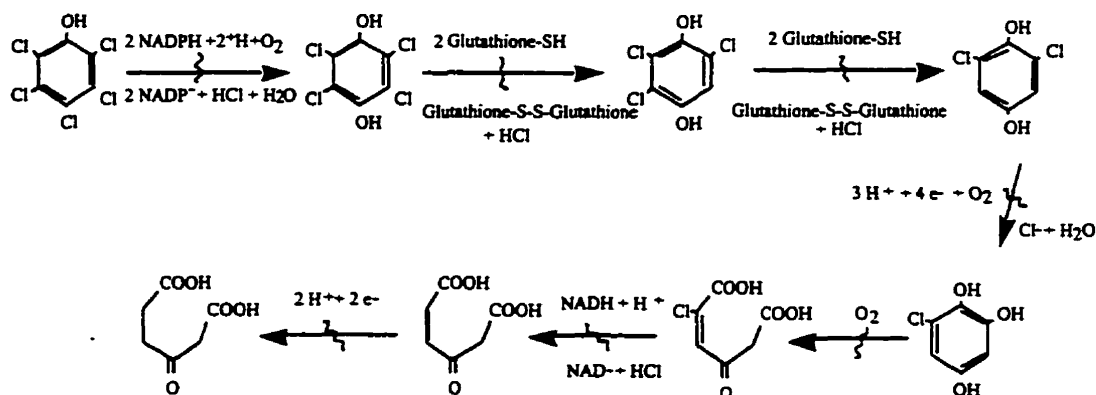
Le pentachlorophénol peut être dégradé selon diverses méthodes chimiques, biochimique, photochimique et microbiologique (Jones, 1981); cependant, le principal mécanisme d'enlèvement du PCP dans les sols est la biodégradation (Hale et al. 1994). Malgré le fait que le PCP soit un chlorophénol fortement chloré et toxique, plusieurs études sont apparues dans la littérature depuis le début des années 70 montrant sa biodégradabilité.

Cependant, sa persistance dans l'environnement suggère que ce processus, en conditions naturelles, peut être très lent (Boyd et al. 1989). En effet, selon Cirelli, (1978b), le PCP peut demeurer dans les sols entre 14 jours et 5 ans, selon la population microbienne en présence et les conditions du milieu.

#### **1.1.2.1 Mécanismes**

La biodégradation du PCP peut avoir lieu en condition aérobie et anaérobie. Sous condition aérobie, les voies métaboliques impliquées dans la dégradation du PCP sont associées à des mécanismes de déshalogénéation hydrolytique (Hale et al. 1994; Kaufman, 1977). Sous condition anaérobie, le PCP peut être dégradé par déshalogénéation réductrice et transformations subséquentes de l'anneau aromatique pour former du dioxyde de carbone et du méthane (Hale et al. 1994). Les principaux produits de dégradation du PCP, sous condition anaérobie, retrouvés dans les sols traités sont les tétra-, tri- et dichlorophénol, ainsi que le pentachloroanisole; tandis que sous condition aérobie, se sont surtout des anisoles, des hydroquinones et du CO<sub>2</sub> (Boyd et al. 1989, Davis et al. 1994).

Dans le présent projet, les expériences sont réalisées sous conditions aérobies. Plusieurs souches bactériennes capable de dégrader le PCP, sous conditions aérobies, ont été isolées par différents groupes de recherche. Boyd et al. (1989) ainsi que Hale et al. (1994) ont identifié, dans la littérature, quatre grands genres de microorganismes capables de dégrader le PCP soit: *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Rhodococcus* et finalement *Flavobacterium*. Ces dernières peuvent aussi effectuer la biodégradation du PCP en conditions anaérobies; toutefois, les voies métaboliques empruntées seront différentes de celles en conditions aérobies. Les quatre genres identifiés dans la littérature sont présents dans les sols; les deux principaux qui sont en plus grand nombre sont les *Pseudomonas* et les *Arthrobacter* (Paul et Clark, 1989). Une des voies métaboliques du PCP sous conditions aérobies est illustrée à la Figure 1.2.



**Figure 1.2: Voie métabolique du PCP (Source: Biodegradation/Biocatalysis Database, 1996)**

#### 1.1.2.2 Facteurs influençant la biodégradation du pentachlorophénol

La biodégradation du PCP dans les sols est affectée par plusieurs facteurs chimiques, physiques et biologiques (Kaufman, 1977). Les principaux paramètres environnementaux d'un sol affectant la biodégradation du PCP sont la présence, en nombre suffisant, de microorganismes dégradant le PCP, le type de sol, le pH, la température, le potentiel rédox, la quantité d'oxygène, l'accessibilité des nutriments, et finalement l'absence ou la présence de substances toxiques (Hale et al. 1994; Providenti et al. 1993). Le Tableau 1.2 illustre les effets de certains de ces paramètres environnementaux.

**Tableau 1.2: Effets des paramètres environnementaux sur les microorganismes et les contaminants**

<b>Paramètre</b>	<b>Effet sur les microorganismes</b>	<b>Effet sur les contaminants</b>
<b>Humidité du sol</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• une hydratation inadéquate ralentit le métabolisme microbien et le mouvement des microorganismes dans le sol</li> <li>• un surplus d'eau limite le transport de l'oxygène</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• une hydratation inadéquate diminue le transport des contaminants ainsi que celui des nutriments dans les sols</li> </ul>
<b>Type de sol</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• selon le type de sol et l'hydratation, les microorganismes, ainsi que leur mouvement seront affectés</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• selon le type de sol, la sorption des contaminants va être plus ou moins grande; un composé chargé sera adsorbé sur de l'argile tandis qu'un contaminant hydrophobe sera absorbé sur la matière organique</li> </ul>
<b>Aération</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• l'oxygène est souvent limité dans les sols et dans les systèmes aqueux</li> <li>• c'est un paramètre nécessaire pour la respiration aérobie</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• peut entraîner les composés organiques volatils (COV)</li> </ul>
<b>Potentiel rédox</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• pour que se produisent les réactions métaboliques en conditions anaérobies, des accepteurs d'électrons alternatifs sont nécessaires</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Certains produits halogénés sont dégradés chimiquement à de faibles potentiels rédox (ex. BPC)</li> </ul>
<b>pH</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• l'activité microbienne dépend du pH; le métabolisme est affecté lorsque le pH est à l'extérieur de la fourchette 5-8</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• la solubilité aqueuse et la sorption dans les sols sont variables selon le pH, pour les composés ionisables</li> </ul>
<b>Température</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• le métabolisme microbien varie en fonction de la température; l'activité microbienne diminue lorsqu'elle se situe à l'extérieur des fourchettes propres à chaque microorganisme</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• la température peut affecter la solubilité des contaminants, leur sorption, leur viscosité et leur volatilisation</li> </ul>

*Adaptée de Providenti et al. (1993)*

Selon Kirsh et Etzel (1973), un autre facteur qui pourrait modifier la vitesse apparente de l'oxydation du PCP est la présence d'une autre source de carbone pour les cellules au moment de l'analyse. En effet, dans la suspension cellulaire au repos exposée uniquement au PCP, l'oxydation de ce dernier est plus rapide que dans les cellules alimentées avec un bouillon nutritif additionné de PCP. Cela laisse supposer que le PCP n'est pas un substrat primaire, mais plutôt secondaire, et qu'il n'entre donc pas facilement en compétition avec des produits plus aisément dégradables.

De plus, l'effet de la concentration en PCP dans un panache de contamination a été étudié par Davis et al. (1994). Ces auteurs ont montré qu'en périphérie du panache de contamination, le PCP accumulé sous la surface du sol est dégradé, tandis que près de la source (à de fortes concentrations), le PCP est mobile et plus récalcitrant à la biodégradation. Selon ces mêmes auteurs, le PCP est vraisemblablement mobile et récalcitrant à la dégradation à des concentrations  $> 20$  mg/l dans l'eau souterraine; tandis qu'à des concentrations  $< 0,05$  mg/l (soit correspondant à la périphérie du panache de contamination), il est vraisemblable que le PCP soit adsorbé dans la matrice de l'aquifère et, qu'à des concentrations entre 0,05 et 20 mg/l, le PCP soit sensible à la biodégradation.

Enfin, Seech et al. (1991) ont montré qu'un accroissement de la teneur en eau du sol, 60 % versus 30 % (p/p), a rehaussé la biodégradation du PCP dans un loam limoneux contaminé artificiellement, tandis qu'un accroissement de la concentration de l'ion chlorure et des conditions d'anoxie ont tous deux été inhibiteurs. De plus, ils ont montré que divers amendements, tels que des feuilles de trèfles rouges, du  $\text{CaCO}_3$ , du  $\text{CaCl}_2$  et de l'eau distillée, apportés aux sols ont influencé la dégradation du PCP de façon significative. Toutes ces études confirment le fait que la biodégradabilité du PCP est influencée par l'environnement dans lequel les microorganismes évoluent.

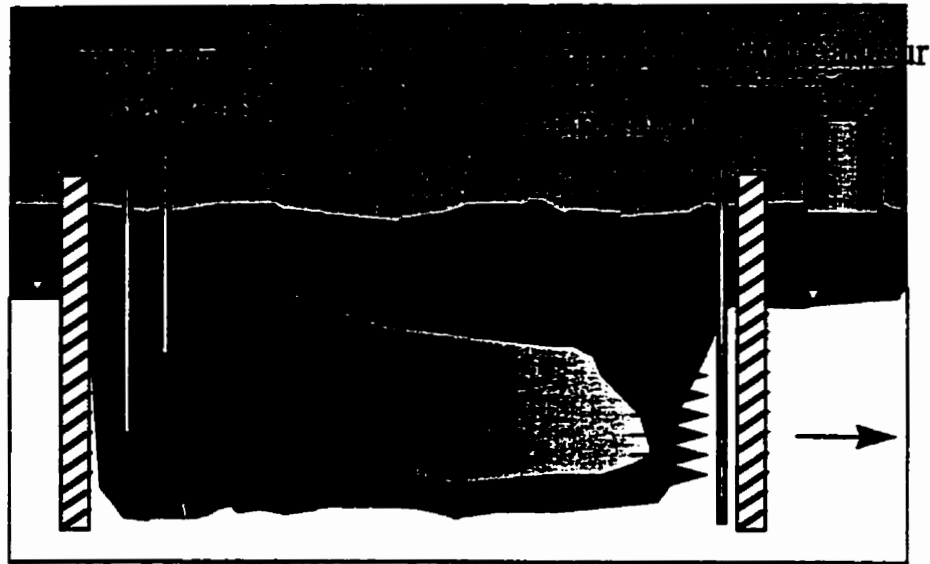
## 1.2 PROCÉDÉS DE LAVAGE DE SOL *IN SITU*

Le traitement des sols contaminés par lavage de sol, peut se faire de façon *EX SITU* ou *IN SITU*. Le lavage de sol *EX SITU* est basé sur un procédé, mécanique ou chimique, de séparation des particules contenant les contaminants et utilisant généralement de l'eau comme solution lavante. Ce procédé constitue en fait une réduction de volume de sol ou encore un prétraitement, les contaminants se retrouvant concentrés dans la partie fine du sol ou dissous dans l'eau. Le lavage de sol *IN SITU* est une désorption des contaminants du sol par une solution d'agents tensioactifs. Ce procédé produit des eaux de lavage riches en contaminants et en agents tensioactifs. Enfin, le lavage de sol est une technologie bien acceptée du public, ayant un coût de procédé relativement faible, et selon Grubb et Sitar (1995), est l'une des technologies *IN SITU* les plus prometteuses pour traiter les DNAPL tels que le PCP commercial.

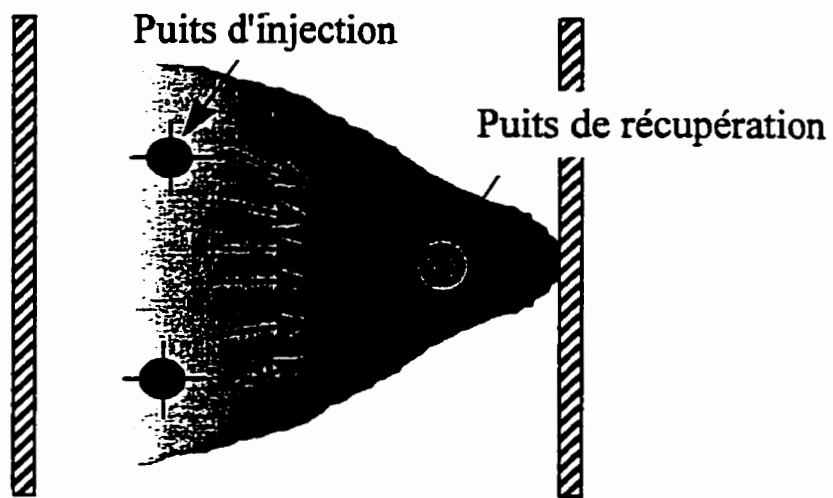
### **1.2.1 LE PROCÉDÉ**

Le lavage de sol *IN SITU* s'effectue dans une zone contaminée, isolée à l'aide de palplanches ou de barrières hydrauliques, tel qu'illustré à la Figure 1.3. Ce procédé consiste en une injection d'une solution d'agent tensioactif dans le sol par pointes filtrantes. La solution s'écoulera dans le sol permettant ainsi la désorption des contaminants du sol. Ces derniers sont alors mis en solution dans l'eau de lavage qui sera récupérée à la surface par des puits de captage. La stabilité du front de solution est affectée par sa viscosité, la force gravitationnelle et les forces interfaciales (Grubb et Sitar, 1995). L'eau récupérée doit par la suite être traitée avant tout rejet dans l'environnement.





Vue en coupe



Vue en plan

Figure 1.3: Schématisation du procédé de lavage de sol *IN SITU*

L'efficacité du lavage *IN SITU* est limitée par la perméabilité du sol dans son état naturel (non excavé); les sols ayant une perméabilité plus faible que  $10^{-4}$  cm/sec sont considérés comme inadéquats pour ce type de traitement (Nash et Traver, 1986). De plus, l'équilibre des différentes phases ainsi que l'écoulement hydrodynamique du front de solution affecteront également l'efficacité d'un tel procédé. En effet, lorsqu'un liquide injecté dans le sol déplace le contaminant déjà en place dans les pores, deux types de déplacement surviennent, soit primaire et secondaire (Grubb et Sitar, 1995). Lors du déplacement primaire, la solution injectée entraîne la partie «libre» du contaminant, tandis que lors du déplacement secondaire, c'est la partie «liée» qui sera entraîné plus ou moins rapidement, par exemple par une augmentation de la solubilité, selon son degré d'affinité avec le sol.

Le procédé de lavage de sol est applicable à plusieurs types de contamination; certaines études montrent la faisabilité du lavage de sols contaminés aux BPC, aux hydrocarbures pétroliers, par des composés organiques (TCB, aniline, phénol et DCP) ou encore aux métaux lourds tels le plomb et le zinc (Abdul et al. 1992; Bhandari et al. 1994; Cline et Reed, 1995; Davis et Singh, 1995; Rajput et al. 1994). Parmi ces études, deux seulement portent sur le traitement *IN SITU* (Abdul et al. 1992 et Bhandari et al. 1994); ces dernières utilisent des agents de type nonionique qui sont respectivement le Witconol SN 70, le Witconol NP 100 et le Witconol NS 500K.

De même, Tobia et al. (1994) ont montré l'efficacité d'un projet pilote *EX SITU* de lavage d'un sol sablonneux contaminé au PCP utilisant un surfactant nonionique, le Tergitol NP 10. Les principales conclusions de cette étude étaient que l'ajout de surfactant a été un des facteurs prépondérants pour la réduction de la concentration en créosote sous les niveaux recommandés et que le pH de la solution lavante a été le facteur déterminant pour la réduction de la concentration en PCP sous les critères. Un pH de 8,5 a permis un enlèvement pratiquement complet du PCP, la concentration étant passée de 420 mg/kg à

moins de 10 mg/kg, soit un taux d'enlèvement de plus de 98%. Également, Stinson et al. (1992) ont atteint des taux d'enlèvement de 89% pour le PCP et 88% pour la créosote par le procédé BioTrol. Des concentrations résiduelles de PCP de 14 mg/kg et de 87 mg/kg ont été atteintes pour des concentrations initiales de 130 mg/kg et de 680 mg/kg, respectivement. Ce dernier est un lavage de sol à base d'eau combiné à des traitements biologiques des eaux de procédés et des boues. Ces dernières études figurent parmi les rares sur le lavage de sols contaminés au PCP. La majorité des études sur le lavage de sol répertoriées dans la littérature portent sur le lavage *EX SITU*.

### 1.2.2 LES AGENTS TENSIOACTIFS

Les agents tensioactifs (ou surfactants) sont des molécules amphiphiles formées d'une partie hydrophile polaire, communément appelée «tête», et d'une partie hydrophobe non polaire, communément appelée «queue» (Figure 1.4). En général, la partie hydrophile des surfactants est constituée de groupements polaires tels que les sucres, les alcools ou les phosphates, tandis que les acides gras et les chaînes aliphatiques forment la partie hydrophobe.

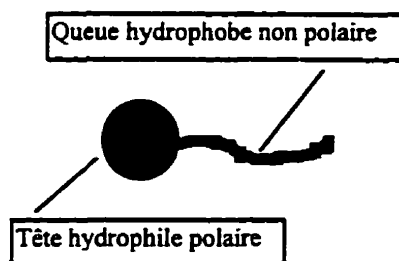


Figure 1.4: Molécule d'agent tensioactif

Il existe principalement quatre catégories d'agents tensioactifs, classés selon les caractéristiques chimiques de leur groupement hydrophile. Ces catégories sont anionique, cationique, amphotère et nonionique (Martel et al. 1993; Rosen 1978; Rouse et

al. 1994). Les principales caractéristiques de chacune de ces catégories sont résumées dans le Tableau 1.3.

**Tableau 1.3: Caractéristiques des différentes catégories d'agents tensioactifs**

Catégorie	Charge de la partie hydrophile	Pouvoir détergent	Coût	Adsorption sur le sol	
				SiO <sub>2</sub>	CaCO <sub>3</sub>
Anionique	Négative	Excellent	Faible	Non	Oui
Cationique	Positive	Faible	Élevé	Oui	Non
Amphotère	Positive et négative	Faible	Élevé	Oui	Oui
Nonionique	Aucune charge	Excellent	Faible à moyen	Non*	Non*

\*Sujet aux forces hydrophobes; dépend de la longueur du groupe hydrophobe.

Source Martel et al. (1993)

Pour un agent tensioactif anionique, la partie hydrophobe est attachée à un acide ( $\text{SO}_3^-$ ,  $\text{COO}^-$ ) tandis que pour un agent tensioactif cationique, elle est attachée à une base ( $\text{NH}_4^+$ , alcool). Ces surfactants sont dissous de la même façon que des ions et sont affectés par le pH. Les amphotères combinent un groupement acide et un basique dans la même molécule. Ils se comportent comme un surfactant anionique en présence d'une solution acide et cationique en présence d'une solution basique. La solubilité dans l'eau des surfactants nonioniques (aucune charge) dépend de la longueur de leur chaîne éther-oxyde (EO); plus elle est longue et plus la solubilité est élevée (Martel et al. 1993). L'effet inverse de la température sur la solubilité, pour les surfactants de type nonionique, indique que leur solubilité globale est due à la longue chaîne hydratante de leur groupement hydrophile. Les molécules d'eau sont fixées sur les oxygènes par des ponts hydrogènes. Par conséquent, selon la nature du groupement hydrophobe, il sera nécessaire d'avoir de 4 à 6 unités EO par molécule d'agent tensioactif pour que celui-ci

soit soluble dans l'eau (Schick, 1967). Un exemple d'agent tensioactif représentant chacune des quatre catégories est présenté au Tableau 1.4.

**Tableau 1.4: Exemple d'agent tensioactif représentants chacune des quatre catégories**

Catégorie	Classe	Structure chimique
Anionique	Sulfates d'alkyle	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2\text{OSO}_3^-$
Cationique	Sels d'ammonium quaternaire	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ \text{C}_{16}\text{H}_{33}\text{N}^+\text{CH}_3 \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$
Amphotère	Acides aminés	$\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$
Nonionique	n-alkoxy alkylphénol	$\text{C}_9\text{H}_1 - \text{C}_6\text{H}_4 - (\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}$
	alkoxy alcool	$\text{RO}(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_7\text{H}$

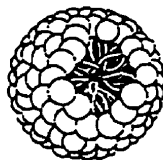
Source: Schmitt (1992)

### 1.2.2.1 Propriétés

Les agents tensioactifs ont la propriété d'augmenter les concentrations des composés peu solubles dans la phase aqueuse et les surfaces interfaciales entre les fluides immiscibles. De récentes études ont montré que ceci permettait d'augmenter la disponibilité de ces substrats pour les microorganismes (Guha et Jaffé, 1996; Rouse et al. 1994; Thibault et al. 1996); d'où leur très grande utilité dans les procédés de lavage de sols *EX SITU* et *IN SITU*. Les surfactants peuvent cependant être inhibiteurs lors de traitements biologiques (Deschênes et al. 1995a, 1995b, Tiehm 1994). De même, lors de leur utilisation pour des traitements *IN SITU*, il est important de s'assurer que le surfactant utilisé soit non dommageable pour l'environnement. Le produit choisi se doit donc d'être non toxique, biodégradable et facilement enlevé par un procédé naturel, tel que la biodégradation, ou anthropogène, tel qu'un lavage de sol (Abdul et Gibson, 1991). Dans le cadre de cette

étude, il s'agit de biodégrader l'agent tensioactif, il est donc nécessaire que ce dernier soit non toxique et facilement biodégradable par les microorganismes indigènes du sol.

Les agents tensioactifs ont la propriété de se concentrer aux interfaces (liquide-air et liquide-liquide) ou de créer une nouvelle surface moléculaire en formant des agrégats appelés micelles (Gilman, 1993; Rouse et al. 1994) tel qu'illustré à la Figure 1.5. Une micelle est constituée de molécules de surfactant dont la partie hydrophobe est dirigée vers l'intérieur et dont la partie hydrophile est en contact avec l'eau. Il y a donc formation d'une région intérieure non polaire, à l'intérieure de laquelle les contaminants hydrophobes auront tendance à se solubiliser (Edwards et al. 1994). La concentration à laquelle se forment ces agrégats s'appelle la concentration micellaire critique (CMC). Lorsque la surface du liquide est saturée en molécules de surfactant et que la concentration en surfactant augmente dans la phase liquide, les molécules d'agent tensioactif se regroupent entre elles et forment les micelles. Dans les procédés de lavage de sol, il est donc d'intérêt d'utiliser les surfactants à des concentrations supérieures à leur CMC favorisant ainsi la solubilisation des contaminants, et donc leur transfert de la phase solide vers la phase liquide.



**Figure 1.5: Micelle sphérique**

#### ***1.2.2.2 Effets des agents tensioactifs sur la mobilisation des contaminants***

Lors de traitements *IN SITU*, l'hydrogéologie du site et l'adsorption des contaminants limitent de façon importante la migration de ces derniers. La mobilisation causée par

l'ajout d'agents tensioactifs permet une augmentation de la vitesse d'écoulement par redistribution des contaminants de la phase solide à la phase aqueuse (Vigon et Rubin, 1989). Ces auteurs ont montré que l'efficacité des agents tensioactifs à mobiliser l'anthracène et le biphényle dépendait de l'interaction entre le contaminant et le sol et que l'ajout de surfactants, tels que le dodécylphénoléthoxylate (DDPE), le nonylphénoléthoxylate (NPE) et le dodécyléthoxylate (DDE), à des concentrations variant de 0,1% à 1% (v/v), permettait une augmentation de la concentration de ces contaminants dans la phase aqueuse.

Une étude de Abdul et al. (1990) a montré que la quantité d'huile de transmission automatique contenue dans un sol sablonneux et récupérée lors de lavage de sol est nettement plus élevée en présence d'une solution d'agent tensioactif. Les résultats obtenus par ces auteurs ont été de 23% de récupération lors du lavage à l'eau seulement et jusqu'à 80% de récupération lors du lavage avec une solution d'agent tensioactif de type alkoxy alcool à une concentration de 0,5% (v/v). Par contre, une autre étude de Rajput et al. (1994) a montré que l'utilisation d'une solution de lavage avec surfactant (Witconol NS 500K à une concentration de 2% v/v) n'avait aucun avantage par rapport à un lavage à l'eau déionisée sur la mobilisation de composés hydrophiles tels que l'aniline, le 2,4-dichlorophénol (DCP) et le phénol; tandis que pour l'enlèvement du 1,2,4-trichlorobenzène (TCB), une combinaison d'un lavage avec une solution de Witconol NS 500K (2% v/v) et d'un rinçage à l'eau s'est montré efficace. Cette étude souligne donc que l'ajout d'agent tensioactif n'augmente pas la mobilisation de composés hydrophiles tels que l'aniline, le DCP et le phénol; mais est un atout non négligeable lorsque les composés sont hydrophobes, comme le TCB.

Deschênes et al. (1995b) ont observé que le dodécyle sulfate de sodium (SDS), un agent tensioactif anionique, était efficace pour mobiliser les HAP de trois et quatre anneaux, et qu'une augmentation de sa concentration (0,005% à 0,1% p/v) se traduisait par la

mobilisation des HAP de cinq et six anneaux, normalement très peu solubles dans l'eau. De même, Volkering et al. (1995) ont montré que la présence de surfactants nonioniques tels que le Triton X-100, le Tergitol NPX, le Brij 35 et le Igepal CA-720, à des concentrations variant de 0,1 à 5 g/l, a résulté non seulement en une augmentation apparente de la solubilité mais également en une augmentation des taux maximum de dissolution cristalline du naphthalène et du phénanthrène.

Ces études montrent qu'il est difficile de prédire le comportement des contaminants en présence d'agents tensioactifs. En effet, selon la concentration, le type de surfactant et le contaminant en présence, la mobilisation des polluants peut être augmentée ou diminuée en présence de surfactant. Il est donc préférable de faire des études en laboratoire afin de sélectionner un agent tensioactif efficace pour la mobilisation du contaminant à traiter avant tout essai sur le terrain.

#### ***1.2.2.3 Effet des agents tensioactifs sur la biodégradation des contaminants***

Les agents tensioactifs ayant la propriété d'augmenter la solubilité aqueuse des composés peu solubles dans l'eau ainsi que les interfaces entre les fluides immiscibles, ils favorisent ainsi l'accessibilité de ces substrats pour les microorganismes. Les principaux facteurs concernant l'interaction substrat-surfactant influençant cette accessibilité sont: l'émulsion, la solubilisation et le partitionnement du substrat (Rouse et al. 1994).

Cependant, la présence d'agents tensioactifs lors d'un processus de biodégradation de composés organiques produit des effets contradictoires, selon le type de surfactant et la concentration étudiés. En effet, certaines études ont montré que les surfactants avaient un effet inhibiteur sur la biodégradation des composés organiques (Deschênes et al. 1995a; 1995b; Laha et Luthy 1991; 1992; Thibault et al. 1996; Tiehm, 1994) tandis que d'autres ont montré que la présence de surfactants augmentait leur biodégradation (Aronstein et al. 1991, Bury et Miller, 1993; Volkering et al. 1995).



Thibault et al. (1996) ont montré qu'en grande concentration, le Witconol SN 70 inhibait l'efficacité d'inocula microbiens tels que ceux utilisés pour la dégradation du pyrène en conditions boueuses. Par ailleurs, l'inoculation de dégradeurs de pyrène en présence de Witconol SN 70 a été le traitement le plus efficace lors de la minéralisation du pyrène (46 à 80%) sous des conditions non saturées. Toutefois, la présence du surfactant a eu un effet inhibiteur sur ces mêmes dégradeurs en conditions boueuses. D'autres études de Deschênes et al. (1995a; 1995b), portant sur l'effet d'un agent tensioactif anionique sur la biodégradation des HAP, ont montré que la présence de SDS diminuait de façon significative la biodégradation de certains HAP. Les résultats de cette étude concordent avec ceux de Tiehm (1994) ayant également montré que la dégradation des HAP était inhibée par la présence de SDS et que cette inhibition augmentait avec la concentration en surfactant. Ces auteurs ont suggéré que la biodégradation des HAP était inhibée par l'utilisation du SDS comme substrat préférentiel par les microorganismes. Également, une étude de Aronstein et al. (1991), montre que l'ajout d'un surfactant nonionique à de faibles concentrations augmente la biodégradation des hydrocarbures adsorbés dans les sols. De même, Tiehm (1994) a observé une augmentation de la biodégradation et de la croissance de microorganismes en présence de plusieurs HAP, étudiés séparément, suite à l'ajout de divers agents tensioactifs nonioniques non toxiques.

Un des facteurs pouvant influencer la biodégradabilité des contaminants en présence d'agents tensioactifs est la biodisponibilité des contaminants adsorbés dans les micelles. La distribution des composés organiques en présence de surfactant nonionique et d'un sol contenant un fort pourcentage de matière organique a été décrite par Edwards et al. (1994). Selon ces auteurs, l'agent tensioactif peut se retourner sous trois formes: 1) molécules dissoutes dans le liquide, 2) adsorbé sur les particules de sol et 3) sous forme de micelles. Les molécules de composés organiques peuvent se retrouver sous quatre formes: 1) solubilisées dans les micelles de surfactants 2) dissoutes dans la solution 3) dissoutes directement sur la matière organique du sol ou 4) adsorbées à la matière

organique en s'associant avec la molécule de surfactant adsorbé. Une partie des composés organiques se retrouvant adsorbée par les micelles du surfactant, lorsque la concentration de ce dernier est au dessus de la CMC, peut affecter la biodisponibilité de ces composés pour les microorganismes.

Laha et Luthy (1991; 1992) ont montré que l'addition d'agents tensioactifs nonioniques, à des concentrations inférieures à la CMC n'a pas affecté la biodégradation du phénanthrène tandis que pour des concentrations au-delà de la CMC, cette biodégradation a été complètement arrêtée. Ces auteurs expliquent ces résultats par la non disponibilité, pour les microorganismes, du contaminant incorporé dans les micelles. D'autres auteurs ont montré qu'effectivement, le phénanthrène solubilisé dans les micelles d'un surfactant nonionique était essentiellement non disponible pour les microorganismes, et que seulement le phénanthrène présent dans la phase aqueuse était dégradé (Grimberg et Aitken, 1995). À l'opposé, Bury et Miller (1993) ainsi que Volkerling et al. (1995) ont montré que lorsque les hydrocarbures sont solubilisés dans les micelles de certains agents tensioactifs synthétiques, leur taux de dégradation est grandement augmenté.

Ce survol de la littérature vient confirmer la complexité des traitements biologiques impliquant la présence d'agents tensioactifs, leur comportement étant incertain a priori, d'où l'importance de faire un choix judicieux lors de la sélection de l'agent tensioactif.

### 1.3 TRAITEMENT DES EAUX DE LAVAGE

Les eaux issues d'un procédé de lavage de sol sont très concentrées en agent tensioactif et en polluant, elles ne peuvent donc pas être réintégrées dans le procédé ni rejetées directement dans l'environnement; il est donc nécessaire de les traiter.

#### **1.3.1 TECHNOLOGIES EXISTANTES**

Afin de pouvoir réutiliser les solutions d'agents tensioactifs souvent très onéreuses, il est intéressant de pouvoir séparer les contaminants de la solution de surfactant. Dans la littérature, la plupart des études portent sur la séparation contaminant-surfactant, celles portant sur le traitement de la solution à contamination mixte sont très peu nombreuses. Ellis et al. (1985) ont étudié l'application de différentes méthodes pour le traitement de solutions contaminées avec des eaux de lavage (polluant et agent tensioactif). Les méthodes ayant été évaluées sont l'hydrolyse, le fractionnement de la mousse, l'adsorption et l'ultrafiltration. Selon ces auteurs, l'hydrolyse suivie d'une adsorption au charbon activé s'est avérée la méthode la plus efficace pour séparer le polluant et l'agent tensioactif, permettant ainsi la disposition de l'eau traitée. Cependant, aucune des quatre méthodes n'a séparé de façon efficace le surfactant de la solution contaminée afin de permettre la réutilisation de la solution de surfactant décontaminée dans le procédé.

Lipe et al. (1996) ont évalué une méthode combinée d'ultrafiltration micellaire et de séparation par bullage (air stripping) dans le but de réutiliser les solutions d'agents tensioactifs. Le procédé d'ultrafiltration micellaire concentre la solution de surfactant-contaminant jusqu'à 99%, sans toutefois effectuer la séparation surfactant-contaminant. Ces auteurs ont par la suite développé un modèle de séparation par bullage basé sur le rapport air/eau, la concentration en agent tensioactif et le partitionnement micellaire. Ce modèle permet la sélection et le design d'une séparation contaminant-surfactant et la

récupération de la solution d'agent tensioactif afin d'optimiser le traitement de solutions riches en agents tensioactifs et en contaminants provenant de restauration de sites.

Un projet pilote de lavage de sol *EX SITU* réutilisant une solution de surfactant anionique (SDS) a été réalisé par Clarke et al. (1992). Le procédé utilisé par ces auteurs récupère la solution de surfactants contenant les contaminants organiques en solution par des puits de récupération (Figure 1.6). La solution d'agent tensioactif ainsi récupérée est pompée des puits d'extraction dans un réservoir de récupération servant d'alimentation à une colonne de séparation par bullage (air stripping) à film mince permettant d'éliminer les composés organiques volatils (COV) de la solution de surfactant. Cette solution pompée du réservoir est filtrée en tête de colonne où elle percolera jusqu'à un lit compacté d'anneaux Rasching (ou tout autre garniture similaire pour colonne). La solution de SDS circule par gravité dans la colonne jusqu'à la sortie où elle sera récupérée dans un réservoir tampon. La solution de surfactant ainsi récupérée, toujours chargée de composés organiques non volatils, est pompée du réservoir tampon vers une unité d'extraction à contre-courant. La solution d'agent tensioactif forme la phase lourde en continu dans l'extracteur et circule de haut en bas à contre-courant vers une phase plus légère de solvant organique introduite par le dessous. Les composés non volatils organiques sont extraits de la phase aqueuse de SDS par le solvant organique. La solution de SDS ainsi purifiée (dans laquelle les composés volatils et non volatils ont été extraits) est déversée par le dessous de l'unité d'extraction vers le réservoir d'alimentation pour le procédé de lavage de sol. Étant donné que la quantité des solutions de surfactant récupérée est plus élevée que celle injectée dans le site contaminé, le volume excédant sera réduit et la concentration en surfactant sera ajustée selon la valeur désirée. Cette étude a donc montré l'efficacité d'une réutilisation d'une solution de SDS pour un lavage de sol *EX SITU*.

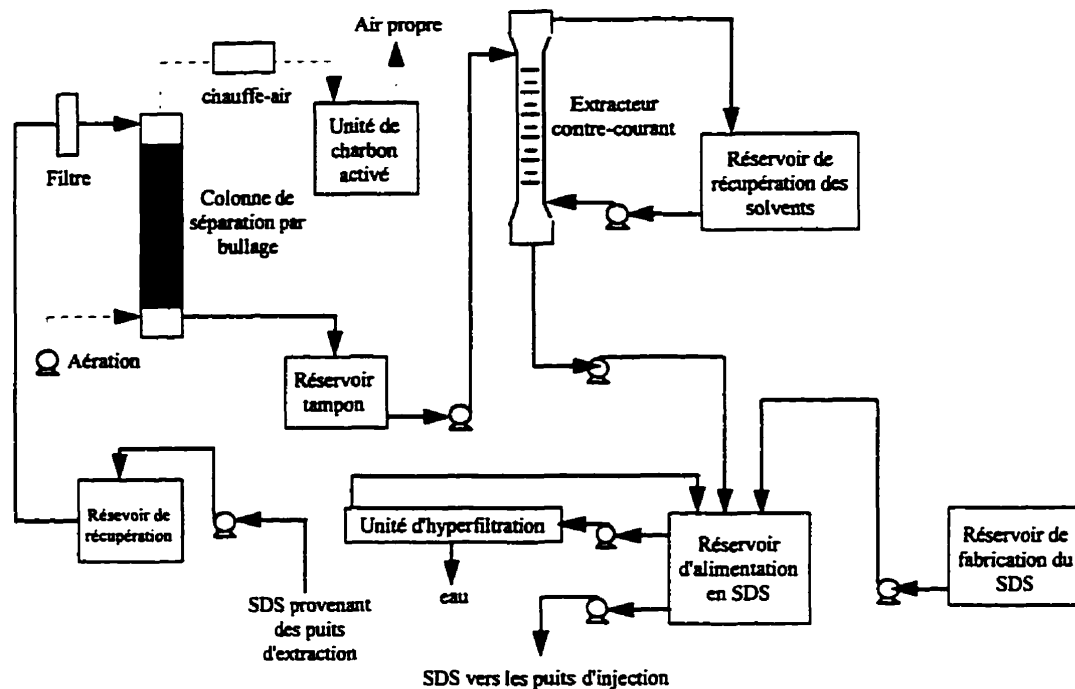


Figure 1.6: Schéma du procédé à contre-courant (Clarke et al. 1992)

### 1.3.2 RÉACTEUR À SOL IMMOBILISÉ

Les eaux de lavage sont des solutions très riches en agent tensioactif et en contaminants. Leur traitement par voie biologique nécessite donc une acclimatation des microorganismes à la présence de charges élevées de surfactants et de contaminants. Différentes études (Karamanev et al. 1996 a-d; Otte et al. 1994; Moos et al. 1983; Rutgers et al. 1993) ont montré qu'une acclimatation des microorganismes dans un bioréacteur pouvait augmenter considérablement le taux de biodégradation du contaminant. Karamanev et al. (1996a; 1996d) ont montré qu'une fois les microorganismes immobilisés sur un support solide, et adaptés dans des conditions optimales d'opération,

des taux de dégradation de PCP pouvant aller jusqu'à 22 000 mg de PCP/l-jr pouvaient être obtenus.

#### ***1.3.2.1 Sols activés***

Le concept des sols activés, développé par Otte et al. (1994), est basé sur le principe de la bioaugmentation d'un consortium immobilisé afin de permettre la biodégradation d'un polluant cible. Plus précisément, lors de l'activation d'un sol, un consortium microbien, provenant d'un sol contaminé et ayant un potentiel de dégradation du contaminant cible, est cultivé en premier lieu dans un bioréacteur à phase boueuse pour être ensuite utilisé comme inoculum afin de permettre la bioaugmentation de ce même sol. En effet, les particules de sol représentent un milieu favorable pour la croissance de la biomasse en offrant un support adéquat pour la formation d'un biofilm et une surface spécifique pour l'adsorption des contaminants, réduisant ainsi la concentration de ces derniers dans la phase aqueuse à laquelle sont exposés les microorganismes (Barbeau, 1996). Une étude de Otte et al. (1994) utilisait ce principe pour la biodégradation aérobie du pentachlorophénol et d'hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) dans un sol contaminé. Ces auteurs ont montré que la production d'un consortium bactérien dégradant le PCP dans un bioréacteur en cuvette alimentée (fed-batch) en phase boueuse augmente l'activité de biodégradation du PCP d'un facteur dix. En effet, durant une période d'opération du bioréacteur de 35 jours, le PCP résiduel étant maintenu près de zéro, le taux de minéralisation du PCP est passé de 70 mg/l-jr à 700 mg/l-jr.

#### ***1.3.2.2 Principes et propriétés du réacteur à sol immobilisé***

Ce type de réacteur est basé sur deux concepts soient, l'utilisation d'un catalyseur microbien optimisé (sols activés) pour la dégradation du surfactant et du PCP et un design innovateur de type gazo-siphon à membrane poreuse (Karamanev et al. 1996a-d).

En général, une biomasse en suspension n'est pas suffisamment efficace pour dégrader des polluants récalcitrants, surtout si les microorganismes sont en faible concentration et qu'un biofilm doit être utilisé pour permettre la biodégradation (Karamanev et Nikolov, 1991). De même, les microorganismes forment des biofilms sur les surfaces présentes dans leur habitat naturel; c'est pourquoi le meilleur support pour ceux d'un sol est la surface même du sol (Otte et al. 1994). Il s'ensuit donc que les particules d'un sol contaminé montrant une certaine activité de biodégradation peuvent servir à la fois comme source permettant le développement d'un consortium bactérien et comme support pour la croissance du biofilm (Karamanev et al. 1996a). De plus, ces auteurs ont montré que l'immobilisation des particules d'un sol, dont le diamètre est de l'ordre du millimètre, permet un biotraitement de contaminants récalcitrants.

Le principe de «sol immobilisé» utilisé dans ce projet, consiste à piéger les particules de sol dans une membrane en géotextile ayant des pores de l'ordre de grandeur de 1 à 1000  $\mu\text{m}$ . Une certaine quantité de sol est mise en suspension dans une solution aqueuse et les particules fines du sol se retrouvent fixées sur la membrane de géotextile. Si la phase liquide du bioréacteur contient le contaminant cible et une quantité de nutriments suffisantes, le liquide circulant à travers la membrane alimentera les microorganismes du sol avec les éléments nécessaires à leur croissance lors de comportements hydrodynamiques réguliers (Karamanev et al. 1996a).

Le bioréacteur développé par Karamanev et al. (1996b; 1996c), utilise le principe du sol immobilisé. Ce bioréacteur est séparé verticalement en deux sections par une membrane semi-perméable en géotextile. Le liquide peut circuler au travers de la membrane tandis que les bulles de gaz ne peuvent pas. Lorsqu'une des deux sections est aérée, la pression hydrostatique, dans la section aérée, dépend de la coordonnée verticale  $h$  et est égale à:

$$p_s = \rho_L (1 - \epsilon_G) g (H - h) \quad (2)$$

où  $H$  est la hauteur de la membrane,  $\rho_L$  est la masse volumique du liquide et  $\epsilon_G$  est la fraction volumique du gaz. La pression hydrostatique de la section non aérée est égale à:

$$p_m = \rho_L g (H - h) \quad (3)$$

Ces équations ainsi que le schéma de la Figure 1.7 montrent que la pression hydrostatique de la section non aérée est plus grande que celle de la section aérée, à la même hauteur  $h$ . Il y a donc une baisse de pression entre les deux sections, de chaque côté de la membrane de géotextile, qui est fonction de la hauteur verticale  $h$ :

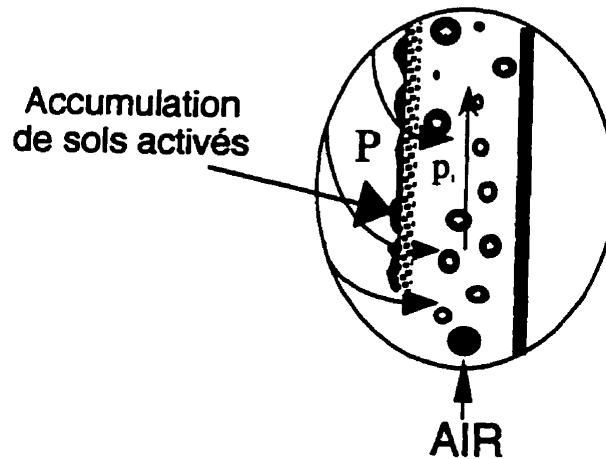
$$\Delta p = p_m - p_s = \rho_L \epsilon_G g (H - h) \quad (4)$$

Cette perte de pression crée un mouvement dans le liquide dans les deux directions, verticale et horizontale. Le mouvement vertical du liquide consiste en un débit vertical ascendant dans la section aérée et descendant dans la section non aérée, comme dans un réacteur classique de type gazo-siphon. Cependant, la vitesse d'écoulement dans ce bioréacteur est une fonction non linéaire de  $h$ , qui est décrite, pour un cylindre tronqué tel que celui utilisé dans ce projet, par l'équation suivante:

$$U_v = \frac{4\Psi \epsilon_G}{\pi D} (2Hh - h^2) \quad (5)$$

où  $D$  est le diamètre du bioréacteur et  $\Psi$  est la permittivité de la membrane.





**Figure 1.7: Schéma du principe de fonctionnement du bioréacteur à sol immobilisé**

La différence de pression des deux côtés de la membrane crée également une circulation horizontale du liquide au travers de celle-ci partant de la section non aérée et se dirigeant vers la section aérée. L'étude hydrodynamique de Karamanev et al. (1995) a montré que la vitesse d'écoulement horizontale du liquide décroît de façon linéaire en fonction de la hauteur du bioréacteur de la façon suivante:

$$U_h = \Psi \varepsilon_G (H - h) \quad (6)$$

Cette écoulement horizontal est responsable du procédé d'immobilisation du sol dans les pores de la membrane de géotextile décrite précédemment. Ce procédé d'immobilisation du sol est plutôt rapide: plus de 90% des particules du sol ( $150 \mu\text{m} < \Phi < 250 \mu\text{m}$ ) sont immobilisées dans les 12 premières minutes d'opération du bioréacteur. Cependant, le temps d'immobilisation croît avec la diminution du diamètre des particules de sol. Ce

bioréacteur conçu par Karamanev et al. (1995) a un comportement hydraulique de type complètement mélangé (CSTR).

### ***1.3.2.3 La théorie des biofilms***

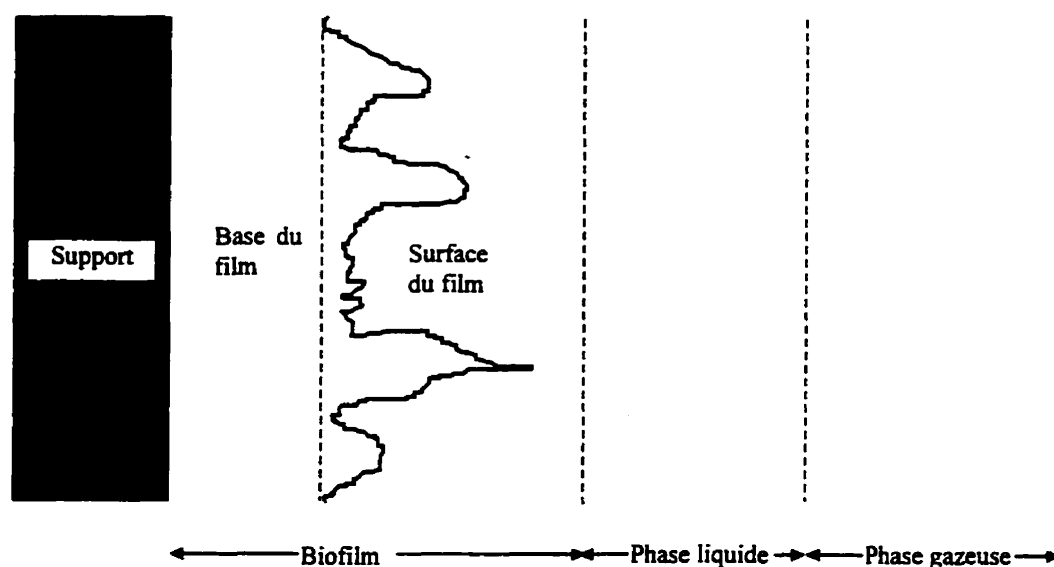
Les biofilms sont présents dans différents domaines tels que la médecine, le traitement des eaux, la fermentation, l'ingénierie et plusieurs autres. En général, les biofilms sont non désirés et les études permettant de mieux comprendre leur comportement ont pour but de détruire ou d'éliminer leur production. Dans notre étude, la formation de biofilms est non seulement souhaitée, mais nécessaire au bon fonctionnement du bioréacteur. La présente section se veut donc un bref survol sur la théorie des biofilms afin d'en comprendre les mécanismes de croissance et de fonctionnement.

#### **1.3.2.3.1 Définition**

Les cellules microbiennes s'attachent fermement à presque toutes les surfaces submergées dans un environnement aquatique. Ces cellules immobilisées croissent, se reproduisent et produisent des polymères extracellulaires qui, généralement, prolongent la cellule formant ainsi une matrice de fibres enchevêtrées qui fournit la structure pour l'assemblage appelé biofilm (Characklis et Cooksey, 1983; Characklis et Marshall, 1990; Wanner et al. 1995). La surface couverte par un biofilm n'est pas nécessairement uniforme dans le temps et l'espace. En effet, certains biofilms peuvent être constitués d'une monocouche ou encore ils peuvent atteindre une épaisseur de 300-400 µm. De plus, un même biofilm peut fournir une variété de microenvironnements pour la croissance microbienne. En fait, la principale distinction entre les biofilms et les autres systèmes microbiens est l'hétérogénéité dans leur microenvironnement, qui font que les procédés de transport et les gradients y sont si importants. Par exemple, un biofilm épais peut contenir un environnement aérobie et un autre anaérobie causé par la limitation de la diffusion de l'oxygène dans le biofilm (Characklis et Marshall, 1990).

### 1.3.2.3.2 Composition

On entend par système biofilm la réunion des composantes suivantes: le biofilm, une couche sus-jacente de gaz et/ou de liquide et une surface sur laquelle le biofilm est immobilisé. La Figure 1.8 illustre les 5 composantes de ce système. Chaque composante est caractérisée par au moins une phase (gazeuse, solide ou liquide). Le support sur lequel se fixera le biofilm joue un rôle majeur dans la formation des premiers stades d'accumulation du biofilm et peut influencer autant le taux d'accumulation des cellules que la distribution de la population initiale. Ce support est généralement imperméable et non poreux, comme par exemple du métal. Dans notre étude, il est perméable et poreux, ce qui facilite la diffusion au travers du biofilm et la fixation des cellules sur sa surface.



**Figure 1.8: Composantes du système biofilm**

Le biofilm comprend deux composantes du système, la base et la surface du film. La base du film consiste en une accumulation plutôt structurée, ayant des frontières relativement bien définies. Le transport moléculaire est dominant à la base du film. La surface du film fournit une transition entre la phase liquide et la base du film. Le

transport diffusif domine la surface du film. Cette dernière peut contenir deux phases: 1) une phase liquide en continu (eau) qui remplit une fraction connexe du volume du biofilm et qui contient différentes particules de matière dissoute ou en suspension; cette matière en suspension comprend des particules pouvant se mouvoir indépendamment l'une de l'autre; 2) une série de composés solides formés de particules spécifiques de matière, telles que des microorganismes, de la matière extracellulaire ou des particules organiques (Characklis et Marshall, 1990). La dernière composante du biofilm est facultative, selon l'environnement dans lequel évolue le système.

Les principales composantes abiotiques formant les biofilms d'un sol sont les argiles et la matière humique. Ces dernières influencent l'activité microbienne en concentrant ou diluant le carbone et les autres sources d'énergie, les nutriments inorganiques, les métabolites microbiens toxiques et les substances xénobiotiques. Les particules d'argile et de matière humique ayant une grande surface spécifique et la capacité de s'ioniser, elles attirent ainsi l'énergie et les substances nécessaires à leur croissance et retiennent les molécules d'eau (Burns, 1989), ce qui en font un excellent support pour les biofilms. Dans le cadre de ce projet, le sol immobilisé sur la membrane de géotextile sera donc préférentiellement un sol argileux.

## **Chapitre 2 : Matériel et méthodes**

---

*Dans ce chapitre, les différentes méthodes analytiques sont décrites en détails. Tout d'abord, la méthode de quantification de l'agent tensioactif choisi, le Witconol SN 70, est présentée, elle se divise en trois parties: l'analyse par chromatographie à haute performance, la concentration des échantillons par colonne d'extraction en phase solide et finalement la tensiométrie. Afin de vérifier les interactions entre le PCP et le Witconol SN 70, des expériences en microcosmes ainsi que le bioréacteur développé par Karamanev et al. (1996) décrit au chapitre 1 ont été utilisés. Les expériences réalisées en bioréacteur sont détaillées dans la dernière partie du présent chapitre.*

## 2.1 LES PRODUITS CHIMIQUES

### **2.1.1 AGENT TENSIOACTIF**

L'agent tensioactif choisi pour toutes les expérimentations, le Witconol SN 70 (Witco Corporation inc, Houston, Texas) est un composé nonionique de la famille des alkoxy alcools (ethoxylated alcohol), dont la formule chimique est:  $RO(CH_2CH_2O)_7H$  où  $R = C_{10}-C_{12}$  (Abdul et Gibson, 1991). Sa masse volumique est de 0,9 g/ml à 21 °C; sa masse moléculaire moyenne est de 392 g/mol et son pH en solution aqueuse à concentration de 1% (v/v), soit 9000 mg/l varie entre 6 et 8 (Annexe A).

### **2.1.2 PENTACHLOROPHÉNOL**

Le pentachlorophénolate de sodium (NaPCP) dont la pureté est de 98%, (Les produits chimiques Oméga, Lévis, Qc) et dont la formule chimique est  $C_6Cl_5ONa \cdot x H_2O$  est utilisé dans les expériences car sa capacité de solubilisation dans l'eau est nettement plus élevée que celle du pentachlorophénol (PCP). Le NaPCP s'hydrate dans le temps, il est donc important de vérifier régulièrement sa masse moléculaire par des analyses comparatives avec le PCP par chromatographie liquide à haute performance. Les principales propriétés du NaPCP sont décrites à la section 1.1 du présent document. Les solutions de NaPCP, selon la concentration désirée, sont préparées en dissolvant le produit dans une solution basique. L'équilibre stoechiométrique est ensuite assuré par l'ajout de 3,3 ml d'une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH 4,65 N) pour chaque gramme de NaPCP mis en solution.

Pour les expériences de minéralisation en microcosmes, du  $[^{14}C]$ PCP (uniformément marqué) de la compagnie Sigma a été utilisé, sa pureté est de 98% et son activité spécifique est de 6,5 mCi/mM.

### 2.1.3 MILIEU SALIN MINÉRAL

Afin de maintenir une quantité de nutriments suffisante pour les microorganismes et de permettre ainsi une bonne croissance de ces derniers, une solution minérale est ajoutée dans les réacteurs. Ce milieu salin minéral (MSM) est composé de: 6,4 mM de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , 12,99 mM de  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 8,33 mM de  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 0,39 mM de  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 11,79 mM de  $\text{NaNO}_3$  et de 1 mM d'une solution de métaux traces. Cette solution contient  $1\mu\text{M}$   $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,  $1\mu\text{M}$   $\text{AlK}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ,  $1\mu\text{M}$   $\text{CuSO}_4$ ,  $1\mu\text{M}$   $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $10\mu\text{M}$   $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  et de  $10\mu\text{M}$   $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ,  $2\mu\text{M}$   $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ . Finalement, cette solution est acidifiée avec du  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (pureté: 95 à 98%) afin de permettre la solubilisation des métaux. Tous les produits utilisés proviennent de la compagnie Anachemia de Montréal (Qc).

### 2.1.4 SOLVANTS

Les solvants utilisés lors de l'analyse des échantillons de pentachlorophénol et de Witconol SN 70 par HPLC en phase inverse sont l'acétonitrile (pureté: 99.98%), le méthanol (pureté: 100%) et l'eau pure (résidus après évaporation: 1 mg/kg). Ils proviennent tous de la compagnie Anachemia de Montréal (Qc).

## 2.2 LE SOL

La recherche d'un sol a été effectuée dans le but d'obtenir un sol contenant une microflore microbienne possédant la capacité de dégrader le PCP. Afin que cette flore microbienne indigène ait eu le temps de se développer dans le sol, il était nécessaire que la contamination soit existante depuis un certain temps. De plus, les contaminants et les microorganismes se concentrent dans la partie fine du sol (Nyer et al. 1996; Schwarzenbach, 1993); d'où l'importance d'obtenir un sol contenant plus de 50 % de particules fines. Le sol recherché devait donc posséder un fort pourcentage de particules fines, de préférence une argile car elle favorise l'activité microbienne (Burns 1989) et sa contamination devait être de longue date.

Le sol choisi pour activer le bioréacteur provient d'un site d'entreposage de poteaux d'Hydro-Québec situé à Pointe-aux-Trembles. Ce sol a été caractérisé pour sa concentration en PCP et hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) et sa granulométrie. Les concentrations en PCP et HAP ont été effectuées par le laboratoire Eco-CNFS de Montréal et la granulométrie a été effectuée au département de génie minéral de l'École Polytechnique de Montréal. Les deux méthodes utilisées pour ces analyses sont décrites en détails à l'annexe B.



## **2.3 MISE AU POINT D'UNE MÉTHODE DE QUANTIFICATION DE L'AGENT TENSIOACTIF**

En comparaison avec les méthodes de spectrophotométrie et de titrage, la chromatographie liquide à haute performance en phase inverse est considérée comme étant la méthode la plus appropriée pour identifier les alkoxy alcools (ethoxylated alcohol) non volatils, tels que le Witconol SN 70 (Kudoh et al. 1984; Schmitt, 1992). Cependant, cette méthode possède une limite de détection inférieure assez élevée, soit environ 60 mg/l (0,007% v/v), elle doit donc être couplée à une autre méthode de quantification. Dans le but d'abaisser cette limite de détection lors des essais de biodégradation, deux combinaisons ont été envisagées, soit une méthode d'extraction en phase solide, soit une méthode de mesure par tensiométrie.

### **2.3.1 ANALYSE PAR CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE À HAUTE PERFORMANCE EN PHASE INVERSE (HPLC)**

L'appareil utilisé est un chromatographe de la compagnie Thermoseparation Products modèle AS 3000 assorti de deux détecteurs: un détecteur à rayons ultraviolets (UV) modèle Spectra Focus et un détecteur à indice de réfraction (RI) modèle Refracto Monitor IV.

Pour chacun des contaminants à analyser, un échantillon de 1,5 ml est prélevé séparément. Tous les échantillons analysés au HPLC doivent préalablement avoir été filtrés à l'aide d'un filtre en Teflon™ (type FH) de 0,5 µm (Millipore Corporation, Bedford MA) dans une fiole de 1,5 ml en verre avec bouchon en Teflon™. Lors de l'échantillonnage, réalisé avec une seringue en verre de type Luer Lok munie d'un support à filtre en acier inoxydable et d'un filtre en Teflon™, une quantité de 5 ml est prélevée du bioréacteur. Afin d'éliminer les pertes dues au filtre, les premiers millilitres

de l'échantillon sont rejetés. L'échantillon de Witconol SN 70 formera régulièrement des bulles après filtration; il est donc nécessaire de le laisser reposer quelques heures avant d'en faire l'analyse ou jusqu'à ce que les bulles formées se résorbent. Pour accélérer le processus, il est possible d'agiter les fioles à l'aide d'un appareil à vortex (Fischer Vortex Genie 2, Scientific Industries Inc, Bohemia NY).

La phase mobile (acétonitrile:eau), ainsi que tous les solvants qui sont utilisés, sont dégazés à l'hélium pendant environ une heure avant l'utilisation de l'appareil. Une fois cette étape terminée, la colonne est conditionnée en laissant circuler la phase mobile pendant une durée minimale de 15 minutes à un débit de 1,5 ml/min, afin de s'assurer que toute la colonne baigne dans la bonne phase mobile et que les impuretés pouvant s'y accumuler aient été désorbées.

Une courbe de calibration est intégrée en début et en fin d'analyse, les échantillons sont injectés dans le HPLC et une courbe du voltage en fonction du temps est tracée par l'appareil. L'appareil compare les aires sous la courbe de chacun des pics de l'échantillon à analyser avec celles obtenues de la courbe de calibration et fait une interpolation linéaire.

Le Witconol SN 70 est quantifié par le détecteur RI modèle FOCUS jumelé à une colonne de type Lichrosorb-RP-18 (EM Separations, Gibbstown, NJ) de 12,5 cm de long (0,5  $\mu$ m de diamètres des particules). Pour son élution, une phase mobile acétonitrile/eau 78:22 est injectée à un débit de 1,5 ml/min. La phase mobile est préalablement préparée dans un contenant en verre de 4 L. Un exemple de courbe d'analyse du Witconol SN 70 est illustré à la Figure 2.1. Le pic du Witconol SN 70 se lit sur le graphique à un temps de rétention de 2,2 minutes  $\pm$ 2%.

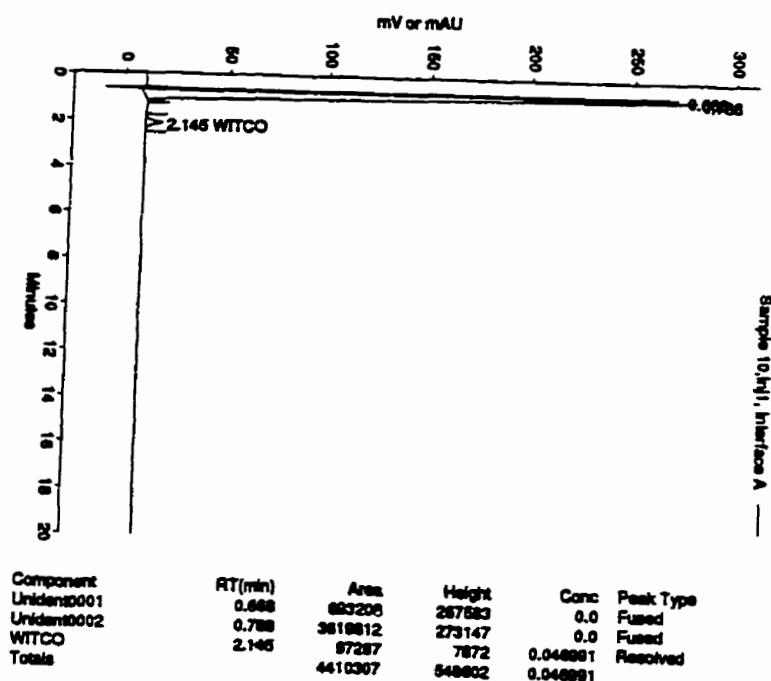


Figure 2.1: Chromatogramme du Witconol SN 70 à une concentration de 0,05 % (v/v), soit 450 mg/l, au HPLC

### 2.3.2 CONCENTRATION DES ÉCHANTILLONS PAR COLONNE D'EXTRACTION EN PHASE SOLIDE

Cette méthode, décrite plus en détails en annexe C, consiste à concentrer des échantillons de Witconol SN 70 en solution aqueuse à une concentration dont la valeur est sous le seuil de détection du HPLC (~90 mg/l). Un échantillon aqueux d'un volume connu variant selon le facteur de concentration désiré, est injecté dans une colonne d'extraction de type Backerbound spe octadécyl (J.T. Backer, Philipsburg NY). L'analyte est retenu dans la colonne lors de l'injection pour être ensuite élué à l'aide de 2 ml de méthanol. L'échantillon récupéré est ensuite analysé au HPLC, selon la méthode décrite à la section

2.2.1.2. L'échantillonnage se fait à l'aide d'une seringue Luer Lok™ de 60 ml en plastique (Anachemia, Montréal) et le volume injecté varie selon la concentration de Witconol SN 70 estimée dans la solution.

### 2.3.3 TENSIONNÉTRIE

Cette méthode consiste à mesurer la tension de surface d'un liquide pour un domaine de concentrations donné. En effet, l'efficacité des agents tensioactifs peut être évaluée par la mesure de la tension de surface et par la détermination de la CMC (Parkinson 1985). L'appareil utilisé est un tensiomètre de la compagnie Fisher Scientific Ltd, modèle 21 Tensiomat semi-automatique. La tensiométrie permet de suivre la concentration de surfactant en solution liquide, par comparaison directe avec le graphique de la tension de surface en fonction de la concentration d'agent tensioactif lorsque celle-ci se situe en dessous de la concentration micellaire critique (CMC), ou par dilutions successives lorsque la concentration en surfactant est plus grande que la CMC.

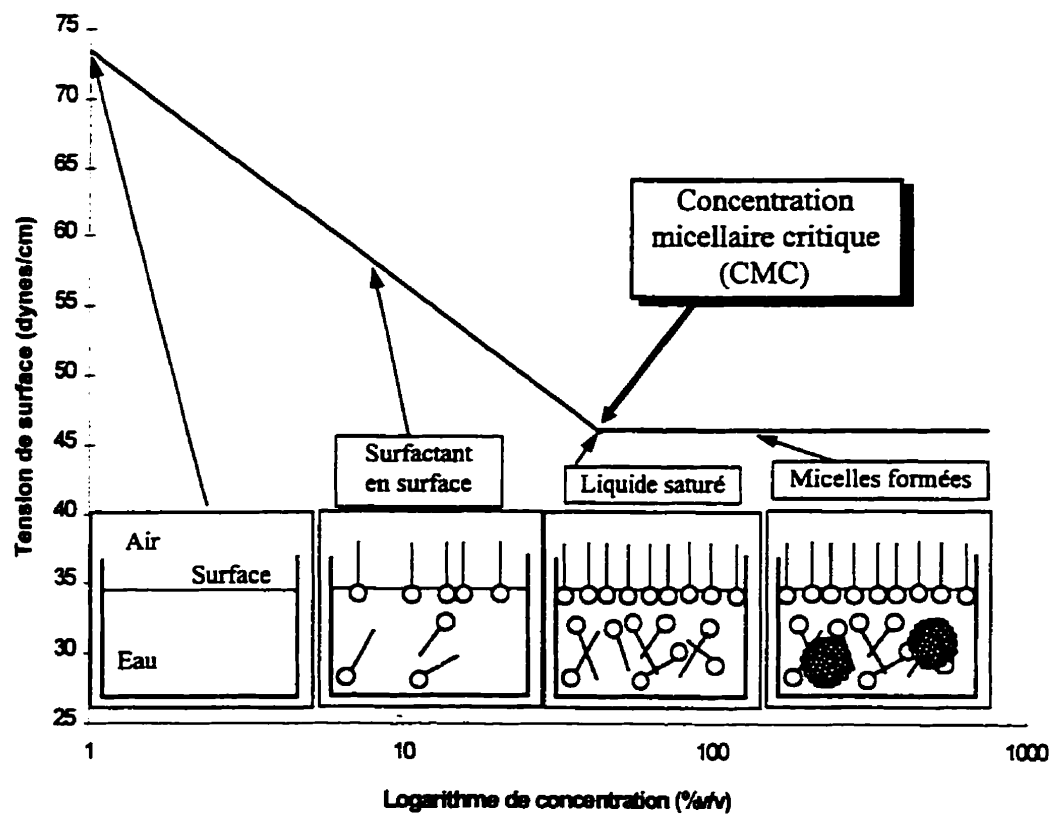
#### 2.3.3.1 *La concentration micellaire critique (CMC)*

Dans une solution d'agent tensioactif, les molécules ont la propriété de se concentrer aux interfaces air-liquide. Plus la concentration en agent tensioactif est élevée, plus les molécules sont en grand nombre, jusqu'à l'atteinte d'une concentration critique à laquelle le liquide est saturé en molécules de surfactant. À ce moment, les molécules s'associent entre elles et forment des aggrégats, appelés micelles, cette concentration est la CMC. La Figure 2.2 illustre ce processus en comparaison avec la courbe de CMC.

En premier lieu, la CMC du Witconol SN 70 est déterminée en traçant le graphique du logarithme de la concentration en fonction de la tension de surface, tel qu'illustré à la Figure 2.2. Une solution de départ est préparée dans une fiole volumétrique de 1 L; un échantillon de 50 ml de cette solution est ensuite prélevé afin de déterminer sa tension de

surface. La concentration de cette solution de Witconol SN 70 de départ a été choisie afin d'obtenir environ 5 fois la CMC obtenue de la littérature (0,1 % v/v, soit 900 mg/l). Les concentrations suivantes ont été effectuées à partir de dilutions successives mesurées à la pipette afin d'éviter un bullage inutile de la solution. Des aliquotes (50 ml), sont versés dans un plat à cristallisation en Pyrex™ (80 mm x 40 mm; Fisher Scientific Ltd), les mesures de tension de surface sont prises en triplicate en deçà de 10 minutes afin de minimiser les effets dynamiques. Le graphique est ensuite élaboré à partir de ces mesures de tension de surface; deux courbes, illustrées à la Figure 2.2 sont alors obtenues, soit: une courbe de pente nulle correspondant à la tension de surface minimale mesurée pour la solution de départ et d'un certain nombre de dilutions de cette solution, et une courbe correspondant à l'augmentation de la tension de surface à partir du point de rencontre des deux courbes.

Lorsque la concentration en Witconol SN 70 de la solution que l'on désire mesurer était plus élevée que la CMC, la tension de surface mesurée par le tensiomètre était identique à celle de la concentration micellaire critique (courbe de pente nulle sur la Figure 2.2). Afin de connaître la valeur exacte de la concentration en agent, il a été nécessaire de diluer l'échantillon jusqu'à ce que la valeur de la tension de surface soit sur la courbe ayant une pente non nulle. Cette mesure est appelée la dilution micellaire critique (DMC).



**Figure 2.2: Courbe explicative de la concentration micellaire critique**

*Source Gilman/1993*

## 2.4 INTERACTIONS ENTRE LE PENTACHLOROPHÉNOL ET LE WITCONOL SN 70

Pour s'assurer d'un comportement optimum de la part des microorganismes, il est possible de les activer en leur donnant les matériaux nécessaires à une bonne croissance. Un bon apport d'oxygène, des nutriments en quantité suffisante et une source de carbone toujours croissante sont des conditions favorables à l'augmentation du métabolisme des microorganismes d'un sol. En se basant sur le principe de sols activés élaboré par Otte et al. (1994), et décrit à la section 1.3.2.1 du premier chapitre, un inoculum pour chacun des contaminants en présence (PCP et Witconol SN 70) a été développé afin de vérifier l'interférence entre le PCP et le Witconol SN 70 lors de leur biodégradation.

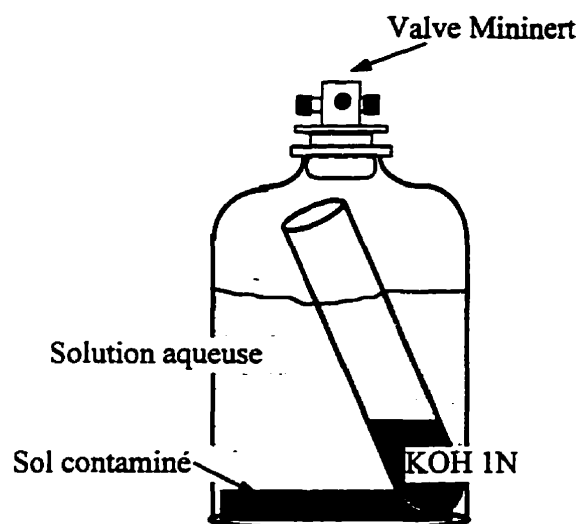
### **2.4.1 PRÉSENCE D'UN CONSORTIUM BACTÉRIEN DÉGRADANT LE PCP**

La méthode d'analyse en microcosmes permet de suivre la minéralisation d'un composé marqué par un radio-isotope, le  $^{14}\text{C}$  pour le pentachlorophénol. Dans les expériences décrites dans cette section, cette méthode d'analyse permet de vérifier l'existence d'un consortium bactérien dans le sol recueilli chez d'Hydro-Québec. De même, cette méthode a également été utilisée pour vérifier l'influence du Witconol SN 70 sur la biodégradation du PCP (section 2.4.3.1).

Les essais en microcosmes ont été réalisés dans des bouteilles sérologiques de 125 ml munies d'un piège à  $\text{CO}_2$  (tube en verre de 12 mm X 75 mm contenant 1 ml d'une solution de KOH 1M), illustré à la Figure 2.2. La minéralisation est mesurée par la production de  $^{14}\text{C}\text{CO}_2$  qui réagit avec la solution d'hydroxyde de potassium (KOH), selon la réaction chimique suivante:



Les microcosmes sont composés d'un mélange boueux contenant 2,5 g de sol contaminé au PCP, une solution de [ $^{14}\text{C}$ ]PCP, et 50 ml d'une solution aqueuse. Le  $\text{CO}_2$  radioactif formé lors de la minéralisation et piégé dans le KOH est échantillonné et quantifié par un compteur à scintillation liquide (modèle 1409 de la compagnie Wallac Scintillation Products, England). L'échantillonnage se fait en prélevant le KOH contenu dans le piège à l'aide d'une seringue de 5 ml en plastique et en le remplaçant par une solution fraîche d'alcali. La quantité de radioactivité enregistrée représente la quantité de PCP ayant été minéralisée par les microorganismes sur une période de temps donnée.



**Figure 2.2: Schéma d'un microcosme**

Une solution radioactive est préparée afin d'obtenir une injection spontanée de 20  $\mu\text{l}$  (spike) dont la lecture au compteur à scintillation est de 100 000 dpm (désintégrations par minute). Le [ $^{14}\text{C}$ ]PCP est en solution dans du toluène; étant donné que le solvant dans toutes les expériences effectuées est de l'eau, il est nécessaire de faire évaporer le toluène et de remettre le [ $^{14}\text{C}$ ]PCP en solution dans de l'eau pure (Anachemia, Montréal, Qc). Afin d'augmenter la solubilité du PCP dans l'eau, le pH est augmenté en ajoutant une solution de NaOH 4,65 N à raison de 3,3 ml par gramme de PCP en solution, le pH de la



solution aqueuse se situe alors autour de 11. Cette solution radioactive est conservée dans une fiole de 1,5 ml en verre ambré munie d'un bouchon en Teflon™ (Thermoseparation Products, Montréal). Le microcosme est finalement scellé par une valve Mininert en Teflon™ (Supelco, Bellefonte PA).

Pour chaque série d'expériences, des contrôles abiotiques contenant 0,05 g d'azoture de sodium ( $\text{NaN}_3$ , Anachemia, Montréal, Qc) ont été réalisés afin de suivre les pertes abiotiques des composés radioactifs. De plus, chaque échantillon a été réalisé en triplicata.

Cette expérience consiste en deux séries de 4 microcosmes, la première sans source de nutriments (eau distillée seulement) et la seconde avec une source de nutriments (solution 10% (v/v) de MSM). Les microcosmes sont agités à 100 rpm dans le noir et à la température de la pièce ( $\sim 20^\circ\text{C}$ ). Lors de l'échantillonnage, le  $\text{CO}_2$  piégé (2ml de KOH) est ajouté à 10 ml de liquide à scintillation (Wallac Scintillation Products, England) dans une fiole en verre de 15 ml (Wallac Scintillation Products, England). Le tout est ensuite analysé au compteur à scintillation, et les résultats sont portés sur un graphique donnant le pourcentage de minéralisation en fonction du temps.

#### **2.4.2 BIODÉGRADABILITÉ DU WITCONOL SN 70**

Une expérience de demande biochimique en oxygène (DBO) modifiée a été réalisée afin de s'assurer de la biodégradabilité du Witconol SN 70. Ce test mesure la quantité d'oxygène consommée par voie biologique pour oxyder la matière organique contenue dans un échantillon d'eau. Un volume connu d'échantillon a été placé dans chacune des bouteilles ambrées de 425 ml. Les concentrations de Witconol SN 70 utilisées pour le test de biodégradabilité sont de 0; 90; 135; 450 et 900 mg/l, tous les échantillons contiennent 10% (v/v) de MSM ainsi que 4,75 g de sol contaminé au PCP. L'agitation a été assurée

par un barreau magnétique. Les bouteilles étaient reliées par le bouchon à un manomètre de mercure. Lorsque l'oxygène dissous était consommé, ce dernier était renouvelé par le transfert de l'oxygène contenu dans l'espace au-dessus de l'échantillon. Parallèlement, le dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) produit par la réaction d'oxydation était capté par des cristaux d'hydroxyde de lithium (LiOH). De cette façon, la quantité d'oxygène consommée était proportionnelle à la baisse de pression indiquée sur le manomètre. L'expérience a été réalisée dans le noir à une température de 20°C. L'appareillage provient de la compagnie John Meunier de Montréal.

La relation quantitative entre la quantité d'oxygène requise pour convertir une quantité définie de matière organique en dioxyde de carbone, en eau et en ammoniacque est représentée par la relation suivante (Sawyer et al. 1994):



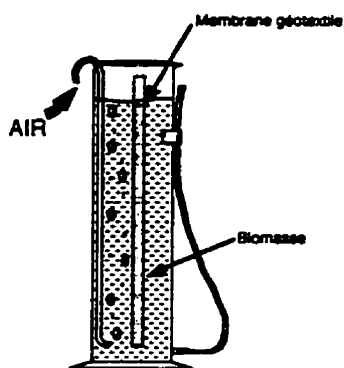
De cette équation, il est donc possible de tirer la quantité d'oxygène consommée par les microorganismes présents dans les bouteilles ambrées. Il est cependant important de noter que cette équation représente la DBO ultime, soit la quantité d'oxygène nécessaire à l'oxydation des composés organiques, comprenant ceux contenus dans le sol; d'où l'importance des témoins abiotiques.

### 2.4.3 DESCRIPTION DU BIORÉACTEUR À SOL IMMOBILISÉ EN COLONNE

Des essais en bioréacteur gazo-siphon à sol immobilisé ont été réalisés dans le but d'adapter les microorganismes pour la biodégradation du PCP et du Witconol SN 70. De même, l'influence du Witconol SN 70 sur la biodégradation du PCP a été vérifiée pour de faibles concentrations d'agent tensioactif. La caractéristique principale d'un bioréacteur à

sol immobilisé est, comme son nom l'indique, de maintenir le sol et, par conséquent, les microorganismes fixés sur un support poreux.

Dans un cylindre de 2 litres, une membrane de géotextile de 34 cm x 7,5 cm est maintenue rigide par un support en acier inoxydable (Figure 2.3). Cette membrane perméable permet, en premier lieu, la séparation du réacteur en deux sections distinctes et, surtout, elle permet au sol de se fixer et à la biomasse de se développer. L'aération, de type gazo-siphon est assurée par une tube en acier inoxydable installé dans l'une des deux sections.



**Figure 2.3: Schéma du bioréacteur en colonne**

L'activation des microorganismes a été effectuée à partir de sols conservés à 4 °C. Ces sols sont ceux utilisés pour les expériences de minéralisation en microcosmes. Dans un premier temps, une quantité de 0,5 % (p/v) de sol est mise en suspension dans la phase liquide du bioréacteur. Les grosses particules ( $\phi < 250 \mu\text{m}$ ) sont immobilisées assez rapidement (moins de 15 minutes) mais une période d'incubation d'environ 12 heures est nécessaire afin d'éliminer la couleur brunâtre de la phase liquide. L'activation des sols débute en mode cuvée (batch) afin de permettre aux microorganismes de s'adapter à leur nouveau milieu qui consiste en de la biomasse déjà active provenant d'un réacteur en

continu du même type, 10 % (v/v) de MSM et 20 mg/l de PCP. Lorsqu'un taux de dégradation du PCP d'environ 20 mg/l-jour est atteint, le bioréacteur est opéré en mode continu.

#### **2.4.3.1 Choix du géotextile approprié<sup>1</sup>**

Les principaux paramètres décisifs dans le choix d'un géotextile pour le présent projet sont la perméabilité à l'eau et au sol. Une recherche a été réalisée parmi les différents géotextiles sur le marché québécois afin d'en sélectionner une quantité plus restreinte à des fins expérimentales. La composition, la perméabilité à l'eau, la disponibilité du géotextile, le diamètre des pores ont été quelques uns des paramètres décisifs dans le choix primaire des géotextiles à étudier. Les caractéristiques des géotextiles ayant été retenus lors de cette sélection apparaissent au Tableau 2.1.

**Tableau 2.1: Caractéristiques des géotextiles sélectionnés**

<b>Géotextile (nom commercial et compagnie)</b>	<b>Caractéristiques</b>
MTC 48-4400 (Matador convertisseur cie ltée)	* matériau: polypropylène • diamètre des pores: 70-150 mm • perméabilité: 0,32 cm/s
375 PP 100 (Texel inc)	* matériau: polypropylène * diamètre des pores: > 300 mm
400 PE A1 SSP (Texel inc.)	* matériau: polypropylène • diamètre des pores: > 300 mm

<sup>1</sup>Les données recueillies dans cette section ont été obtenues par Patricia Goulet (1996) lors de la réalisation de son projet de fin d'études.

La perméabilité au sol est évaluée de façon qualitative par des expériences consistant à emprisonner le sol entre deux couches de géotextiles, appelées pochettes de sol, qui seront, par la suite, aspergées d'eau. Si une trop grande quantité de sol est recueillie à l'extérieur de la pochette de sol, le géotextile est exclu des expérimentations suivantes.

La perméabilité à l'eau est déterminée selon la méthode standard canadienne Can/CGSB-148.1 No 4-94 (Rollin, 1994). Cette méthode, basée sur le principe de la loi de Darcy, est décrite plus en détails à l'annexe D. Les perméabilités ont été calculées pour les géotextiles 375 PP 100 et 400 PE A1 SSP, leurs valeurs n'étant pas mentionnées dans les catalogues consultés.

#### ***2.4.3.2 Influence de la présence du Witconol SN 70 sur la biodégradation du PCP***

L'effet de la concentration de Witconol SN 70 sur la minéralisation du PCP par les microorganismes d'un sol contaminé au PCP fut réalisé en bioréacteur à colonne et en microcosmes. Dans ces derniers, différentes concentrations de Witconol SN 70 furent ajoutées au mélange boueux (2,5 g de sol et 50 ml de MSM). Il est à noter que les concentrations avaient été établies selon la concentration micellaire critique (CMC) du surfactant étudié et la concentration nécessaire pour effectuer un lavage de sol efficace. Le Tableau 2.2 décrit les paramètres utilisés pour la réalisation de cette expérience.

Cette série de 32 microcosmes a également été réalisée en triplicata accompagnée d'un témoin abiotique. De même, les conditions expérimentales sont identiques à celles décrites à la section 2.4.1 du présent document.

**Tableau 2.2: Paramètres expérimentaux de l'expérience sur l'influence de la présence de Witconol SN 70 sur la biodégradation du PCP**

Microcosmes	Concentration Witconol SN 70 (mg/l)	Sol tamisé au tamis 2,0 mm (g)	Milieu minéral salin ou nutriments (% v/v)
1-4	0	2,5	10
5-8	9	2,5	10
9-12	45	2,5	10
13-16	90	2,5	10
17-20	450	2,5	10
21-24	900	2,5	10
25-28	2250	2,5	10
29-32	4500	2,5	10

L'expérience en bioréacteur en colonne décrit à la section précédente et dont les microorganismes ont été adaptés à la biodégradation du PCP, a vérifié l'influence de la présence de faibles concentrations de Witconol SN 70 en mode cuvée. Une injection spontanée "spike" est ajoutée à une concentration de départ de 0,0025% (v/v) de Witconol SN 70, soit 22,5 mg/l. La cinétique de dégradation du PCP est ensuite déterminée en fonction de la concentration de Witconol SN 70.

#### **2.4.3.3 Le suivi du bioréacteur**

Des échantillons ont été prélevés régulièrement dans le bioréacteur pour permettre l'analyse du PCP et du Witconol SN 70. Le suivi de la concentration en Witconol SN 70 a été réalisé par chromatographie liquide à haute performance et par tensiométrie. Le suivi de la concentration du PCP dans les différentes expériences en bioréacteur à sol immobilisé est assuré par deux méthodes d'analyses: la chromatographie liquide à haute performance et la spectrophotométrie.

La spectrophotométrie a l'avantage de permettre des lectures instantanées lorsqu'un suivi doit être effectué en continu. Par contre, la longueur d'onde utilisée étant de 320 nm, un large éventail de produits est couvert par ce spectre (la plupart étant des chlorophénols et des sels présents dans le milieu), ce qui amène une source d'erreur. Cette méthode est donc utilisée à titre qualitatif plutôt que quantitatif. Les échantillons obtenus par spectrophotométrie sont donc régulièrement analysés en parallèle au HPLC. En effet, par la méthode de chromatographie liquide à haute performance, une séparation des composés présents dans le milieu est effectuée. Les résultats obtenus sont donc spécifiques à un produit donné. L'incertitude créée lors des analyses par spectrophotométrie est donc éliminée.

Pour les analyses du Witconol SN 70, la tensiométrie est utilisée lorsqu'il n'y a pas de produits pouvant modifier la tension de surface du liquide. Cette méthode, tout comme la spectrophotométrie pour le PCP, est utilisée de façon qualitative. Les échantillons sont également analysés en parallèle au HPLC. Ces méthodes d'analyse pour le Witconol SN 70 sont décrites en détails aux sections 2.3.1 et 2.3.3 du présent document.

#### **2.4.3.3.1 La chromatographie liquide à haute performance (HPLC) pour l'analyse du PCP**

Les échantillons prélevés du bioréacteur sont analysés à l'aide du détecteur UV modèle FOCUS à une longueur d'ondes de 210 nm. La séparation est effectuée par une colonne CSC-Spherisorb-ODS1 (Chromatography Sciences Company, Montréal) de 25 cm de long (0,3  $\mu$ m de diamètres des particules). Le PCP est élué par une phase mobile méthanol:eau (70:30) à un débit de 0,7ml/min. La colonne est chauffée à une température de 55°C afin de diminuer la viscosité de la phase mobile et d'éviter ainsi une trop grande pression dans le système. Les échantillons sont conservés sur le plateau de l'appareil à une température de 4°C avant d'être injectés automatiquement dans le détecteur UV à l'aide d'une seringue en verre de 250  $\mu$ l.

Une fois la séparation accomplie, les chromatogrammes des échantillons injectés sont portés sur un graphique du voltage en fonction du temps tel que celui illustré à la Figure 2.4. Le pic de PCP se lit sur le graphique à un temps de rétention de 43 minutes  $\pm 2\%$ . Le logiciel intègre l'aire sous la courbe et en comparaison avec la courbe de calibration effectuée, calcule la valeur de la concentration de l'échantillon.

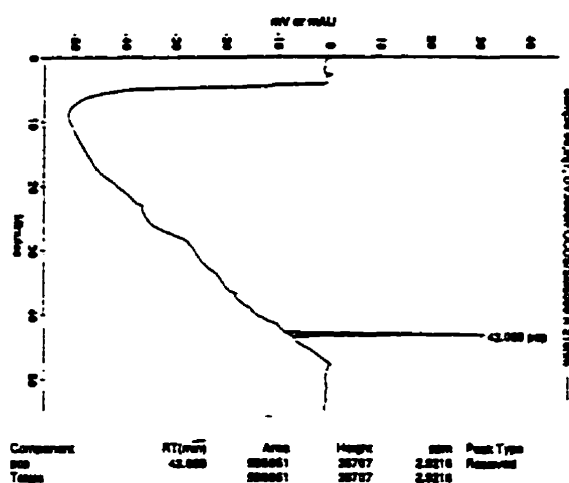


Figure 2.4: Chromatogramme du PCP à une concentration de 3 mg/l au HPLC

#### 2.4.3.3.2 La spectrophotométrie

Les concentrations de PCP en phase aqueuse sont mesurées par absorption des ondes UV à une longueur de 320 nm par un spectrophotomètre visible-UV modèle no 390 de la compagnie Sequoia-Turner. La spectrophotométrie est une méthode précise lorsque le bruit de fond est connu. La valeur du bruit de fond peut être modifiée dans le temps lors du suivi d'un bioréacteur en continu. En effet, la biomasse étant modifiée dans le temps, cela peut avoir un impact sur la coloration de l'échantillon prélevé. Les lectures au spectrophotomètre ont été comparées régulièrement à des analyses au HPLC afin d'ajuster le bruit de fond.



Les échantillons ont été prélevés dans le bioréacteur à l'aide d'une seringue de 30 ml en plastique, conditionnée au PCP, et ensuite filtré sur un filtre HA de 0,45 µm (Millipore Corporation, Bedford MA). Le zéro est effectué en mesurant la lecture de l'eau distillée dans une cuvette à spectrophotomètre en verre pour UV (Hellma 320-2500 nm, Fischer Scientific Ltd), puis la mesure de l'échantillon du réacteur est prise. La conversion de la lecture en concentration de PCP (en mg/l) se fait selon la formule suivante, tirée de la courbe de calibration illustrée en annexe E:

$$[\text{PCP}] = (\text{lecture} - X) \cdot 57,7 \quad (9)$$

où:  $[\text{PCP}]$  = concentration de PCP en mg/l

$X$  = bruit de fond selon la coloration de la solution analysée

57,7 = pente de la courbe de calibration dans la partie linéaire

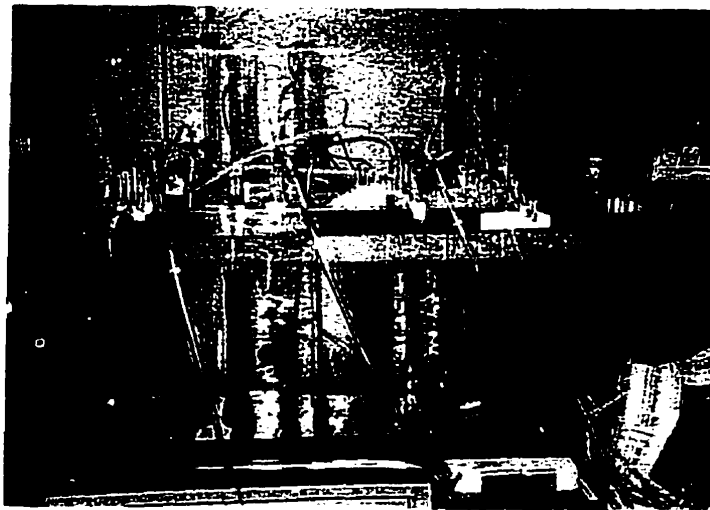
#### **2.4.4 EXPÉRIENCE EN BIORÉACTEUR SÉQUENTIEL À SOL IMMOBILISÉ**

La finalité des expériences en laboratoire est d'élaborer les bases de conception pour un bioréacteur séquentiel. Ce dernier consiste en une série de bioréacteurs tels que celui décrit à la section 2.5.3 du présent document. L'hypothèse de base régissant le montage est la spécialisation des microorganismes pour biodégrader un contaminant type; une première série de bioréacteurs servira donc pour la biodégradation du Witconol SN 70 et une seconde série pour la biodégradation du PCP.

##### ***2.4.4.1 Activation des consortium bactériens pour la biodégradation du PCP et du Witconol SN 70***

La préparation des microorganismes pour effectuer la biodégradation de la solution à contamination mixte dans le bioréacteur séquentiel nécessite des modifications par rapport aux expériences réalisées en bioréacteur à colonne. Afin de favoriser le développement

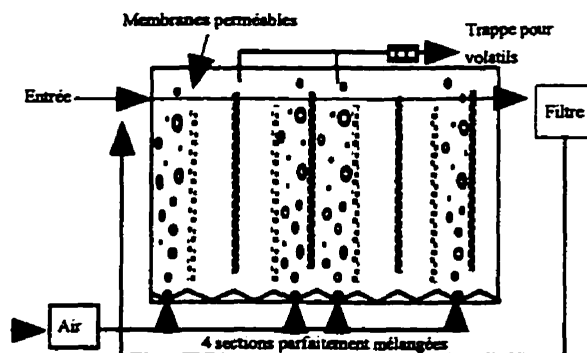
de biofilms sur les membranes géotextiles, il est préférable d'adapter les microorganismes à la dégradation des contaminants dans des sections séparées. Pour ce faire, le montage illustré à la Figure 2.5 a été réalisé.



**Figure 2.5: Photo du montage pour l'adaptation des microorganismes pour le PCP et le Witconol SN 70**

#### ***2.4.4.2 Expérience en bioréacteur séquentiel***

Le bioréacteur illustré à la Figure 2.6 permettra de vérifier la viabilité d'un tel procédé pour la biodégradation d'une solution synthétique de lavage de sol, contaminée au PCP et au Witconol SN 70. Pour ce premier essai, le bioréacteur contient 4 sections parfaitement mélangées mise en série.



**Figure 2.6: Schéma du bioréacteur séquentiel à sol immobilisé**

Chacune de ces sections est séparée par une membrane imperméable en acier inoxydable, obligeant l'écoulement à passer par la partie inférieure du bioréacteur. Les parois du bioréacteur sont en verres et le volume total est d'environ 43 litres. L'aération a été assurée par des tubes en acier inoxydable perforés tous les centimètres par des trous d'un diamètre de 0,25 mm. Le débit d'aération était de 0,15 vvm, soit 150 cc/min-l. Le débit à l'entrée variait selon le taux de dégradation désiré. Les concentrations maximales à atteindre en PCP et en Witconol SN 70 ont été fixées selon la littérature; elles correspondent à des concentrations retrouvées dans des eaux de lavages de sols contaminés au PCP et au BPC (Abdul et al. 1992; Tobia et al. 1994); soit de 20 mg/l pour le PCP et de 4500 mg/l de Witconol SN 70.

## **Chapitre 3 : Sélection et caractérisation d'un agent tensioactif**

---

*Un des points majeurs du projet a été la sélection d'un agent tensioactif adéquat pour le lavage de sol, quantifiable rapidement et efficacement. Le présent chapitre explique en détails les étapes qui ont permis le choix du Witconol SN 70 pour réaliser les expériences en laboratoire ainsi que les méthodes analytiques utilisées pour le quantifier et en faire le suivi en bioréacteur. Finalement, du fait de l'utilisation de l'agent tensioactif pour un procédé de lavage de sol IN SITU, les deux caractéristiques importantes du Witconol SN 70 sont sa faible valeur de CMC et sa biodégradabilité.*

### 3.1 CHOIX D'UN AGENT TENSIOACTIF PERMETTANT UN LAVAGE EFFICACE DE SOLS CONTAMINÉS AU PCP

Parmi les quatre catégories d'agents tensioactifs (anionique, cationique, amphotère et nonionique), deux ont été retenues pour le procédé de lavage de sols soit: anionique et nonionique (section 1.2.2). En effet, les agents tensioactifs amphotères et cationiques ont une grande capacité à former des complexes en présence des minéraux du sol (Abdul et al. 1990; Martel et al. 1993) en plus de posséder un pouvoir détergent faible. Ceux-ci ne sont donc pas appropriés au lavage de sol. Au contraire, les agents tensioactifs anioniques et nonioniques sont très utilisés, entre autre, dans l'industrie de l'alimentation, du cosmétique et des détergents. Ceci s'explique surtout par leur faible coût et leur bon pouvoir détergent (Schmitt, 1992).

Dans le cas présent, la sélection d'un agent tensioactif s'est basée principalement sur les propriétés de leurs différents groupes et sur les données de la littérature. Plusieurs études portent sur l'utilisation des surfactants pour le lavage de sols contaminés par des polluants hydrophobes, tels que les hydrocarbures, les BPC, les HAP ou le PCP (Abdul et Gibson, 1991; Fountain et al. 1991; Martel et al. 1993; Park et Jaffé, 1995; Tobia et al. 1994).

Tobia et al. (1994) ont obtenu des résultats montrant qu'un agent tensioactif nonionique, le Tergitol NP 10, améliorerait la désorption du PCP et de la créosote dans les sols, comparativement à un surfactant anionique, le Dowfax 8390. Suite à différents tests effectués, ils recommandent l'utilisation de deux surfactants nonioniques, de type alkoxy alkyphénol (APE): le Tergitol NP10 et le Triton X100. Toutefois, les APE sont désormais interdits d'utilisation en Suisse en raison de leur toxicité grandissante lors d'une biodégradation incomplète. En effet, les APE se divisent en deux groupes, correspondant au nombre d'atomes de carbone compris dans la chaîne alkyle: alkoxy octylphénol (8 atomes de carbone) et alkoxy nonylphénol (9 atomes de carbone). La

dégradation complète de ces composés n'a pas encore été démontrée expérimentalement; seule une dégradation partielle dans la région hydrophile, i.e. dans la chaîne EO a été observée (Maki et al. 1994). De plus, il a été démontré que plus la chaîne EO était courte lors de la biodégradation d'un APE, plus le composé formé était toxique pour les microorganismes (Patoczka et Pulliam, 1990). Par conséquent, l'utilisation de ce surfactant ne peut pas être couplée à un procédé biologique de traitement.

Par ailleurs, des études en laboratoire, réalisées par Abdul et Gibson (1991) et Abdul et Ang (1994), ont montré que plus de 80% des huiles ainsi que des BPC étaient désorbés d'un sol sablonneux en utilisant un agent tensioactif nonionique de type alkoxy alcool, le Witconol SN 70 ( $\text{RO}(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_7\text{H}$  où  $\text{R} = \text{C}_{10}\text{-C}_{12}$ ). Après 15 lavages (1 lavage = 1 volume de pores) avec une concentration de 1,0%, soit 9000 mg/l, de Witconol SN 70, les pourcentages de BPC enlevés du sol étaient de 79, 88 et 82 % pour les expériences contenant initialement 481, 981 et 1728 mg/kg de BPC, respectivement.

De plus, la biodégradabilité du Witconol SN 70 a été démontrée en laboratoire. Ainsi, Ang et Abdul (1992) ont montré qu'en présence d'un sol et d'une eau souterraine, les faibles concentrations de Witconol SN 70 pouvant être présentes après un lavage de sol *IN SITU* pouvaient être dégradées rapidement. En effet, des concentrations variant de 180 mg/l à 1000 mg/l ont été dégradées en moins de 36 jours. Cinq genres de microorganismes ont été identifiés lors de la dégradation du Witconol SN 70, soit *Alcaligenes*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Bacillus* et *Arthrobacter*. Tous ces genres de microorganismes sont présents naturellement dans le sol. Le genre *Arthrobacter* est le plus répandu et représente jusqu'à 40% de la population totale (Paul et Clark, 1989). Viennent ensuite les genres *Pseudomonas* et *Bacillus*, retrouvés dans des proportions variant de 5% à 20% lors de dénombrements bactériens effectués sur différents types de sol (Paul et Clark, 1989).

Selon la littérature, le Witconol SN 70 serait donc un agent tensioactif efficace pour un lavage de sol contaminé aux BPC et, en concentrations pouvant aller jusqu'à 1000 mg/l, il est dégradé par les microorganismes indigènes d'un sol. Dans un premier temps, ces résultats peuvent être envisagés pour la désorption du PCP dans les sols.

Une évaluation économique du Witconol SN 70 a également été réalisée. Celle-ci montre que pour laver 1 m<sup>3</sup> de sols contaminés (pour un lavage seulement) le coût de revient du Witconol SN 70 est d'environ 30\$. En comparaison avec d'autres surfactants, ce dernier est nettement compétitif. Le Witconol SN 70 a donc été choisi pour effectuer les différentes expériences en laboratoire.

### **3.2 DÉVELOPPEMENT D'UNE MÉTHODE DE QUANTIFICATION DE L'AGENT TENSIOACTIF**

Le principe méthodologique choisi ayant été utilisé par Abdul et al. (1991) consiste en une analyse par chromatographie liquide à haute performance en phase inverse (HPLC) d'un échantillon aqueux, précédée d'une concentration de certains échantillons par colonne d'extraction en phase solide. Lors des essais réalisés dans le présent projet, la méthode au HPLC s'est avérée reproductible et précise, tandis que la méthode de concentration par colonne d'extraction en phase solide s'est avérée non utilisable, une mise au point de certains paramètres non précisés dans la littérature, tels que la concentration des phases de conditionnement et d'élution ainsi que les solvants utilisés, était nécessaire. Il a donc été décidé de coupler la méthode d'analyse par HPLC à la méthode par tensiométrie afin de permettre la mesure de concentrations en Witconol SN 70 sur une plus grande échelle de valeurs. Par ailleurs, la tensiométrie permet une mesure immédiate de la concentration dans le liquide, tandis que l'analyse au HPLC demande une période de temps parfois trop longue pour les besoins des expériences, car le délai de réponse est d'au moins 20 minutes.

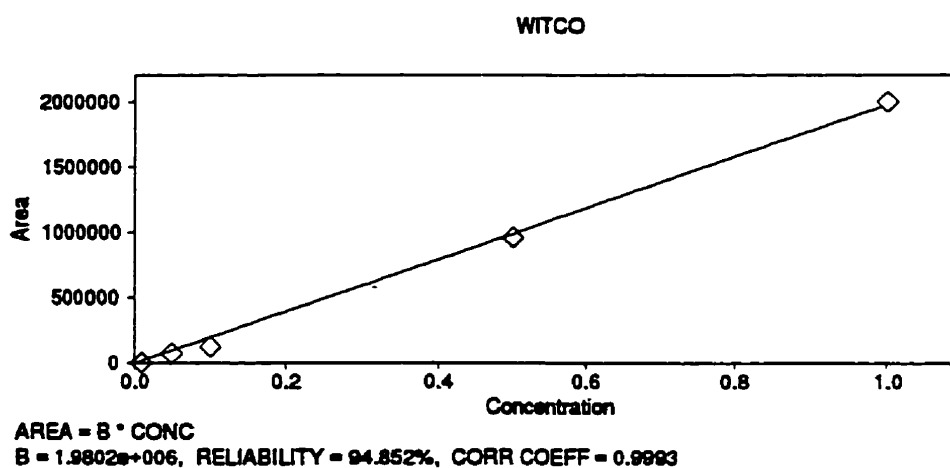
#### **3.2.1 PRÉCISION ET REPRODUCTIBILITÉ DE LA MÉTHODE D'ANALYSE PAR HPLC POUR LE WITCONOL SN 70**

Afin de vérifier l'exactitude des résultats obtenus par analyse au HPLC, des échantillons aqueux contenant des concentrations connues de Witconol SN 70 ont été injectés. Les résultats ont été comparés avec les concentrations calculées pour une dizaine d'échantillons différents. L'erreur relative était toujours inférieure à 1%; les concentrations ont donc été mesurées à 2 chiffres significatifs près. De plus, des essais de reproductibilité ont été effectués pour un même échantillon, lors d'une même analyse et à des intervalles d'un jour ou d'une semaine. L'erreur relative était de l'ordre de 2%, pour



une dizaine d'échantillons. Les standards effectués pour la courbe de calibration utilisaient le Witconol SN 70 commercial comme solution mère.

La courbe de calibration était effectuée avant et après chaque série d'analyses. C'est à partir de cette courbe qu'étaient interpolés les résultats provenant d'échantillons du bioréacteur. Afin de s'assurer de la reproductibilité des résultats, il est nécessaire d'obtenir un coefficient de corrélation élevé. Un exemple de courbe de calibration est illustré sur la Figure 3.1.



**Figure 3.1: Courbe de calibration du Witconol SN 70 au HPLC**

La limite de détection de l'appareil est de 0,01% (v/v), soit 90 mg/l, valeur près de la CMC (0,015% v/v, soit 135 mg/l). La méthode d'analyse par HPLC exige un temps d'analyse d'au moins 20 minutes par échantillon, ce délai dans le temps par rapport au moment de l'échantillonnage, est trop grand pour des analyses de biodégradation en continue. Par conséquent, pour les concentrations sous la CMC, la tensiométrie a été utilisée pour le suivi en direct (section 3.2.3).

### 3.2.2 CONCENTRATION DES ÉCHANTILLONS

La concentration des échantillons par colonne d'extraction en phase solide (section 2.3.2), nécessite la mise au point de solutions de conditionnement et d'élution. Les concentrations exactes, en acétonitrile et en eau, requises doivent être établies afin de permettre le conditionnement adéquat de la colonne et l'élution complète du Witconol SN 70. Les taux de récupération obtenus pour diverses concentrations de Witconol SN 70 sont résumés au Tableau 3.1. Il est à noter que les taux de récupération varient en fonction de la concentration en Witconol SN 70 dans l'échantillon; en fonction du volume de solution injectée dans la colonne d'extraction et que le taux de récupération est plus élevé pour de grands volumes d'échantillon. En effet, pour une concentration de 450 mg/l de Witconol SN 70, le taux de récupération a été de 60% pour un volume d'échantillon de 20 ml et 80% pour un volume de 40 ml. Or, le volume d'échantillon requis peut s'avérer important lors d'un échantillonnage dans un réacteur en mode cuvée, car l'échantillon ne peut être réintégré au réacteur étant donné qu'il est séparé en deux phases, Witconol SN 70 et eau, et que le Witconol SN 70 est mis en solution dans de l'acétonitrile.

**Tableau 3.1: Taux de récupération en colonne d'extraction en phase solide de différentes concentrations de Witconol SN 70**

# Échantillon	Concentration de départ (mg/l)	Volume de l'échantillon (ml)	taux de récupération (%)
1A	4500	4	90
1B	4500	4	90
2A	4500	8	90
2B	4500	8	95
3A	450	20	60
3B	450	20	60
4A	450	40	81
4B	450	40	80

Cette méthode n'a pas été très reproductible et des expériences supplémentaires auraient été nécessaires pour permettre l'obtention de solutions en concentrations appropriées pour le présent travail. Un tel développement méthodologique aurait pu nécessiter beaucoup plus de temps que celui accordé pour la réalisation des objectifs du projet. Pour ces raisons, la méthode de concentration par colonne d'extraction en phase inverse n'a pas été retenue.

### 3.2.3 ANALYSE PAR TENSIOMÉTRIE

La tensiométrie consiste en une mesure de la tension de surface du liquide. Cette mesure associée à la CMC du surfactant (section 2.3.3.1), permet d'évaluer l'efficacité des agents tensioactifs (Parkinson 1985). Afin de connaître la concentration en Witconol SN 70, il était nécessaire de comparer les valeurs de tension de surface des échantillons obtenues à celles lues sur la courbe de CMC du Witconol SN 70 (Figure 3.2).

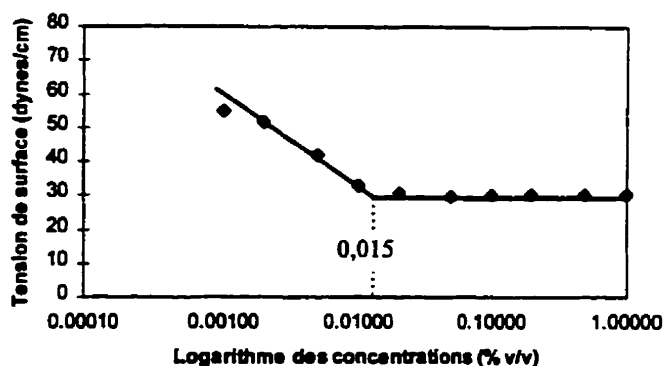


Figure 3.2: CMC du Witconol SN 70 (lot #P-5446)

L'équation de la partie linéaire de la courbe comprise entre les concentrations 0,0005% (v/v) et 0,015% (v/v), soit 4,5 mg/l et 135 mg/l, est définie par:

$$y = -23,3 * \log x - 12,9 \quad (10)$$

où

$y$  = tension de surface (dynes/cm)

$x$  = concentration en Witconol SN 70 (% v/v)

Il est à noter que la courbe de CMC du Witconol SN 70, avec laquelle les résultats en bioréacteur sont comparés, a été obtenue avec une solution à base d'eau distillée. La présence de biomasse en suspension, de sol ainsi que de MSM (section 2.1.3) peut influencer la valeur de cette tension de surface. La tension de surface de l'échantillon liquide contenant de la biomasse en suspension du bioréacteur, contenant du sol immobilisé et 10 % de MSM, a été mesurée et elle correspondait à celle de l'eau distillée: soit 76,7 dynes/cm pour l'échantillon liquide et 76,1 dynes/cm pour l'eau distillée. L'hypothèse concernant l'influence de la biomasse, du sol immobilisé et du MSM sur la tension de surface peut donc être réfutée pour notre étude. La limite de détection de cette méthode était de 0,0005% (v/v), soit 4,5 mg/l, de Witconol SN 70.

En somme, le suivi par tensiométrie peut se faire de façon directe et avec une bonne précision lorsque la valeur de la concentration en Witconol SN 70 est en dessous de la CMC. En effet, pour des valeurs de concentration en Witconol SN 70 > CMC, il est alors nécessaire de mesurer la DMC (section 2.3.3.2), qui peut introduire des erreurs de manipulation supplémentaires.

### 3.3 PROPRIÉTÉS DU WITCONOL SN 70

Pour notre étude, les propriétés importantes à connaître, pour le Witconol SN 70, sont sa CMC et sa biodégradabilité par les microorganismes indigènes des sols. En effet, la concentration nécessaire pour désorber les contaminants est directement reliée à la présence de micelles, et donc à la CMC. Donc, pour effectuer un lavage de sol *IN SITU*, il est préférable d'utiliser un surfactant avec une CMC faible, ce qui permet de diminuer les coûts associés à la quantité utilisée. Selon la littérature, la CMC du Witconol SN 70 est de 0,02% (v/v), soit 180 mg/l, (Abdul et al. 1990 et Abdul et Gibson 1991). Cependant, comme cet agent tensioactif n'est pas un produit pur comme, par exemple, le SDS, il est possible que sa CMC varie selon le lot de production. De même, la biodégradabilité du Witconol SN 70 doit être démontrée afin de permettre l'utilisation d'une biotechnologie pour traiter les solutions de lavage de sols.

#### **3.3.1 CONCENTRATION MICELLAIRE CRITIQUE DU WITCONOL SN 70**

Le Witconol SN 70 est un composé chimique produit commercialement par la compagnie Witco Corporation. Des bouteilles de 250 ml ont été obtenues de lots différents, par conséquent, sa composition peut varier légèrement, car la longueur de la chaîne de carbones peut varier entre  $C_{10}$  et  $C_{12}$ . La CMC doit donc être calculée pour chaque échantillon provenant d'un lot différent. Les solutions de Witconol ont principalement été préparées à partir du lot #P-5446, dont la CMC est de 0,015% (v/v), soit 135 mg/l (Figure 3.2). La courbe de CMC d'un second lot utilisé pour les expériences est de 0,014% (v/v), soit 126 mg/l, et se retrouve en annexe F.

### 3.3.2 BIODÉGRADABILITÉ DU WITCONOL SN 70

Selon Ang et Abdul (1992) le Witconol SN 70 est considéré comme biodégradable. Cependant, est-il biodégradable par les microorganismes présents dans le sol utilisé pour la biodégradation du PCP?

La Figure 3.3 illustre la consommation d'oxygène des microorganismes indigènes du sol, en présence de différentes concentrations de Witconol SN 70, en fonction du temps d'incubation. Les résultats obtenus avec ce test de DBO (section 2.3.4), montrent que le Witconol SN 70 est dégradé par les microorganismes présents dans le sol choisi. En effet, en présence de 900 mg/l de Witconol SN 70, une DBO de plus de 1500 mg/l est obtenue après 26 jours d'incubation, alors que la DBO dans les témoins ne contenant pas d'agent tensioactif, n'est que de 60 mg/l. Les résultats montrent aussi que plus la quantité de Witconol SN 70 est élevée, plus la DBO est importante. La DBO mesurée pour une concentration de 90 mg/l de Witconol SN 70 a été de 225 mg/l après 26 jours d'incubation, tandis qu'elle a été de 1560 mg/l pour une concentration de 900 mg/l.

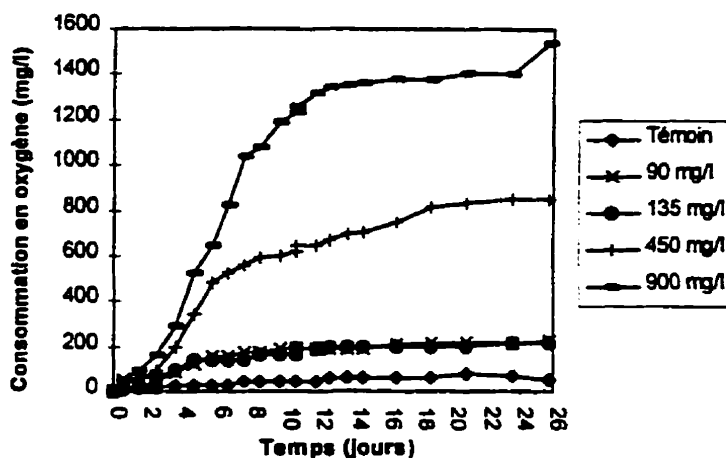


Figure 3.3: Biodégradabilité du Witconol SN 70 par les microorganismes d'un sol contaminé au PCP

Ces résultats concordent avec la littérature. En effet, la biodégradabilité du Witconol SN 70 par les microorganismes du sol avait déjà été montrée par Ang et Abdul (1992). En effet, ces auteurs ont mis en évidence qu'en présence d'une eau souterraine et d'un sol, des solutions d'un surfactant nonionique de type alkoxy alcool, tel que le Witconol SN 70, à des concentrations initiales de 1000, 650, 250 et 180 mg/l ont été dégradées jusqu'à des concentrations de 5 mg/l en 36, 20 et 17 jours respectivement.

Les résultats obtenus, après 26 jours d'incubation, sont résumés dans le Tableau 3.2. La différence entre certains duplicata peut s'expliquer par la concentration variable en microorganismes dégradant le Witconol SN 70. En effet, malgré la présence de la même quantité (en grammes) de sol, le nombre de microorganismes n'est pas nécessairement le même dans chacun des échantillons en raison de l'hétérogénéité des sols.

**Tableau 3.2: Résultats de l'expérience de DBO**

Echantillon	Oxygène consommé (mg/l)	Oxygène théorique nécessaire <sup>⊗</sup> (mg/l)	Quantité de l'oxygène théorique consommée (%)
Témoin #1	40	0	na
Témoin #2	60	0	na
90 A	230	256	66
90 B	220	256	63
135 A	210	380	39
135 B	20*	380	
450 A	820	1280	59
450 B	880	1280	64
900 A	1540	2560	59
900 B	1050*	2560	

<sup>⊗</sup> Quantité d'O<sub>2</sub> nécessaire pour l'oxydation d'une concentration donnée de Witconol SN 70

\* : Mauvais fonctionnement de l'appareillage

na: non applicable

Ces résultats confirment la biodégradabilité du Witconol SN 70 par les microorganismes d'un sol. Des expériences supplémentaires seraient nécessaires afin de déterminer les

voies métaboliques de dégradation, si cette biodégradation peut être complète et si les produits engendrés par la biodégradation du Witconol SN 70 sont non toxiques. La complexité des expériences associées à la connaissance détaillée de ces phénomènes ne permettait pas d'envisager leur réalisation dans le cadre de ce projet.



### 3.4 CONCLUSION

Le Witconol SN 70 a été choisi comme surfactant cible en raison de sa biodégradabilité démontrée en laboratoire, de sa faible CMC (0,015% v/v, soit 135 mg/l) et de son efficacité pour le lavage *IN SITU* de sols contaminés au BPC. Le fait que la concentration en Witconol SN 70 utilisée dans les essais de biotraitement se situe dans les limites des méthodes analytiques a nécessité une approche combinant deux méthodes. La méthode retenue pour la détermination de la concentration en Witconol SN 70 consiste à analyser les échantillons par tensiométrie, et lorsque les échantillons sont au-dessus de 90 mg/l (limite de détection du HPLC), à analyser les échantillons par HPLC (Figure 3.4). En général, les deux méthodes sont couplées lorsque les valeurs attendues sont à l'intérieur des limites des méthodes.

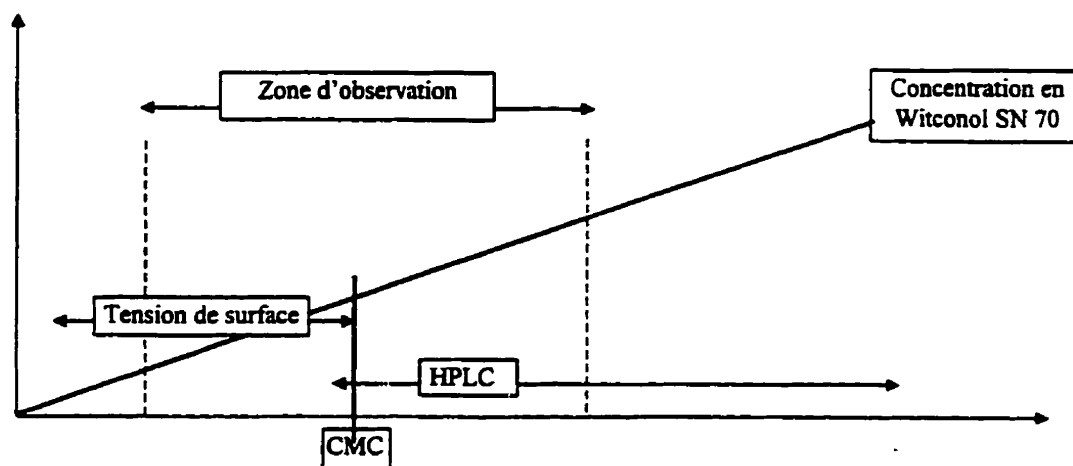


Figure 3.4: Schématisation de la méthode analytique du Witconol SN 70

Pour les lots utilisés dans les différentes expériences, la CMC expérimentale du Witconol SN 70 est de 0,015% (135 mg/l). Le Witconol SN 70 est biodégradable par les microorganismes indigènes d'un sol contaminé au PCP et ce, même pour des concentrations supérieures à la CMC.

## Chapitre 4 : Étude des interactions entre le PCP et le Witconol SN 70

---

*Les agents tensioactifs peuvent modifier le comportement des microorganismes dégradeurs d'un polluant, tel que le PCP; ce chapitre est donc consacré à l'étude des interactions entre le PCP et le Witconol SN 70 lors de la biodégradation du PCP par des microorganismes indigènes d'un sol contaminé.*

*La première étape importante a été le choix du système à l'étude. Ce dernier doit rencontrer certains critères afin de permettre une optimisation de la biodégradation des produits (le PCP et le Witconol SN 70). Les principaux critères de choix sont: l'immobilisation des microorganismes dégradeurs, la présence d'un consortium microbien adapté, le comportement hydraulique du bioréacteur favorisant la formation de biofilms et la performance du système.*

*Par la suite, la biodégradation du PCP et du Witconol SN 70 a été étudiée de façon indépendante. De cette étude, les différents paramètres influençant la biodégradation du Witconol SN 70 ont été identifiés. Finalement, l'effet de la présence du Witconol SN 70 sur la biodégradation du PCP a été étudié.*

#### **4.1 CHOIX DU SYSTÈME D'ÉTUDE**

Pour le traitement des eaux de lavage de sols riches en pentachlorophénol et en Witconol SN 70, certaines caractéristiques doivent être prises en compte pour le choix d'un réacteur permettant le traitement de ces eaux. Les principaux paramètres à considérer pour faire un choix adéquat de réacteur pour le traitement de ce type de solutions sont: l'immobilisation de la biomasse; un consortium microbien actif et un comportement hydrodynamique favorisant l'obtention de taux de biodégradation élevés.

##### **4.1.1 IMMOBILISATION DES MICROORGANISMES**

Les eaux provenant du procédé de lavage de sols ont généralement des concentrations élevées en contaminants et en agent tensioactif (PCP et Witconol SN 70); il est donc nécessaire que les microorganismes soient dans des conditions permettant leur survie. Le principe des sols activés tel que conçu par Otte et al. (1994) utilise la suspension microbienne en phase boueuse; les microorganismes d'un tel système étant plus facilement altérables en présence de grandes concentrations en contaminants, il est préférable d'immobiliser la biomasse ainsi acclimatée sur un support microbien tel que dans le bioréacteur conçu par Karamanev et al. (1996a et 1996b) et décrit à la section 1.3.2. En effet, un système immobilisé favorise la croissance de biofilms qui sont plus résistants à de fortes concentrations de produits toxiques, tel que le PCP (Nichols, 1989).

De plus, Galil (1994) a montré que, pour l'enlèvement des hydrocarbures, les caractéristiques d'un système de production de boues biologiques à film fixe étaient significativement meilleures que celles d'un système à suspension microbienne, et ce malgré le fait que la majorité des hydrocarbures étaient attachés au film fixe. En effet, pour un système de boues activées (système à film fixe), 25 % des hydrocarbures totaux furent biodégradés et 50 % furent attachés aux biosolides; tandis que pour le système à suspension microbienne (biomasse en suspension), 10% seulement des hydrocarbures

étaient dégradés et 10% des hydrocarbures étaient attachés aux boues. Dans ce dernier traitement, 70% des hydrocarbures étaient enlevés par aération (stripping). Finalement, lorsqu'un procédé doit fonctionner en mode continu, il est préférable que la biomasse soit fixée afin d'éviter un lessivage de cette dernière.

#### **4.1.2 CONSORTIUM MICROBIEN**

La biodégradation de certains produits requiert la coopération de plusieurs espèces de microorganismes. Ces interactions peuvent être nécessaires pour la première étape de dégradation, pour une phase de transformation intermédiaire ou encore pour la minéralisation complète du composé. Par exemple, plusieurs bactéries et champignons qui sont capables de dégrader des composés toxiques nécessitent un ou plusieurs facteurs de croissance. Ces auxotrophes (avec des besoins nutritifs complexes) ne croîtront pas dans un milieu liquide test ayant le carbone comme seule source de croissance, car ils ont besoin d'une ou de plusieurs vitamines B, des amino acides, des purines, des pyrimidines ou des facteurs de croissance plus complexes (Alexander, 1994).

Par ailleurs, lorsque la biodégradation d'un mélange de produits est désirée, il est préférable d'avoir un consortium microbien plutôt qu'une souche pure afin de permettre l'activation de divers microorganismes capables de dégrader les produits en présence. En effet, l'activité des cultures pures est souvent restreinte par un nombre limité de contaminants et est moins applicable pour des solutions complexes telles que celles rencontrées dans l'industrie du bois, créosote et PCP (Otte et al. 1994). De même, Fewson (1988) a montré qu'un mélange de souches indigènes dégradant les HAP et le PCP, avait l'avantage d'être plus résistant à des changements extrêmes des conditions environnementales et à la prédation. Il s'ensuit donc que l'utilisation d'un consortium microbien est plus adéquat pour la dégradation de solutions à contamination mixte telles que celles retrouvées dans le procédé de lavage de sol. Finalement, lors de la dégradation

en bioréacteur un lessivage des microorganismes peut être évité par l'utilisation des sols activés permettant d'immobiliser le consortium microbien.

#### **4.1.3 COMPORTEMENT HYDRAULIQUE**

Un comportement hydraulique de type complètement mélangé (CSTR), tel que celui retrouvé dans le bioréacteur à sol immobilisé développé par Karamanev et al. (1996a et 1996b) favorise non seulement la répartition des polluants et des nutriments dans le système, mais également la croissance des biofilms. De plus, il est relativement facile de maintenir les conditions environnementales, telles que la température, dans ce type de réacteur (Fogler, 1988). En effet, un système fermé ne peut conserver un biofilm stable, il est donc préférable d'utiliser un système ouvert tel qu'un CSTR ou un piston (Characklis et Marshall, 1990).

Le bioréacteur à sol immobilisé décrit à la section 1.3.2 et développé par Karamanev et al. (1996a; 1996b) répond aux exigences requises pour le traitement de solutions à contamination mixte; il sera donc utilisé dans les expériences de biodégradation du PCP et du Witconol SN 70 en bioréacteur.

## 4.2 BIODÉGRADATION DU PCP

Pour le traitement en bioréacteur de solutions à contamination mixte, il est important de connaître le comportement des microorganismes face aux contaminants en présence, de façon individuelle ainsi que regroupés dans une même solution. L'activation des microorganismes indigènes d'un sol contaminé au PCP s'est effectuée séparément dans un bioréacteur cylindrique pour chacun des contaminants en présence (PCP et Witconol SN 70). L'interaction entre le PCP et le Witconol SN 70 a par la suite été vérifiée en microcosmes ainsi qu'en bioréacteur à sol immobilisé pour de faibles concentrations de Witconol SN 70.

### 4.2.1 LE SOL

Le sol choisi pour l'immobilisation dans le bioréacteur était un sol argileux provenant d'un site d'entreposage de bois traité. La courbe de granulométrie décrite à la Figure 4.1 montre que ce sol est argileux, car il contient 56% de particules fines ( $\phi < 0,05$  mm). La contamination en PCP sur le site étant continue depuis une quinzaine d'années, il est fort probable que le consortium bactérien présent soit actif.

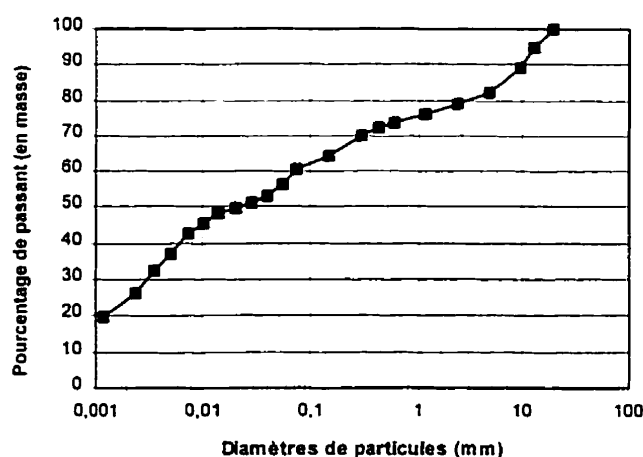


Figure 4.1: Courbe granulométrique du sol recueilli sur le site d'Hydro-Québec

Parmi les 300 litres de sol recueillis sur le site d'Hydro-Québec, un échantillonnage a été effectué afin de déterminer la concentration en HAP et en PCP de ce dernier. Deux échantillons composites de 500 g ont été analysés. Les résultats sont résumés au Tableau 4.1:

**Tableau 4.1: Caractérisation du sol recueilli sur le site d'Hydro-Québec**

<b>No Échantillon</b>	<b>A1</b>	<b>A2</b>
<b>Concentration en PCP (mg/kg)</b>	15,3	18,6
<b>Concentration en HAP totaux</b>	4,5	6,1

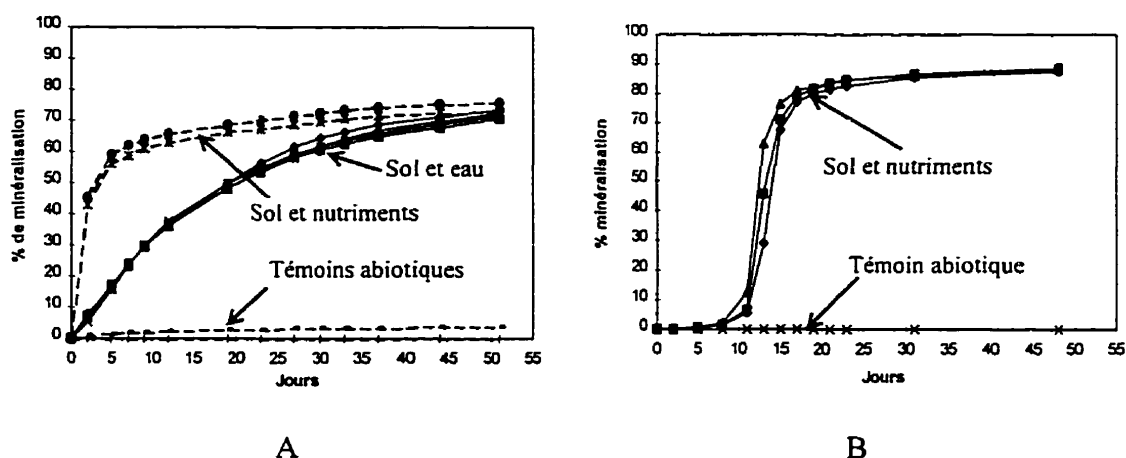
En raison de l'hétérogénéité des sols, ces résultats sont significativement semblables. La concentration en PCP dans le sol recueilli est assez faible ( $< 20$  mg/kg) par rapport aux quantités de PCP ayant été déversées sur ce site, ceci vient renforcer l'hypothèse selon laquelle des microorganismes dégradeurs de PCP sont présents dans ce sol.

#### **4.2.2 PRÉSENCE D'UN CONSORTIUM MICROBIEN DÉGRADANT LE PCP DANS LE SOL CHOISI.**

Les microorganismes indigènes d'un sol contaminé par un polluant sont capables de dégrader ce dernier lorsque les conditions du milieu leur sont favorables. Afin de vérifier l'activité des microorganismes présents dans le sol recueilli sur le site d'Hydro-Québec ainsi que l'influence de la présence de nutriments sur le taux de minéralisation, des expériences en microcosmes, décrites à la section 2.4.1, ont été réalisées.

La Figure 4.2 illustre le taux de minéralisation du  $[C^{14}]PCP$ , par les microorganismes présents dans l'échantillon de sol choisi, en fonction du temps d'incubation. Ces résultats montrent qu'un consortium microbien capable de dégrader le PCP est présent dans les sols recueillis sur le site d'Hydro-Québec (section 2.2). En effet, à la Figure 4.2A, le taux

de minéralisation atteint a été d'environ 60% en moins de 5 jours pour les microcosmes auxquels 10% (v/v) d'une solution de nutriments a été ajouté. Le taux de minéralisation maximal de 3% atteint par les témoins abiotiques montre que la minéralisation mesurée dans les microcosmes a été réellement produite par les microorganismes présents dans le sol ajouté. L'hypothèse qu'un sol contaminé au PCP depuis plusieurs années contient des microorganismes capables de dégrader ce même contaminant est donc confirmée (section 2.2). Il est à noter que l'ajout de nutriments (MSM) dans la phase liquide des microcosmes augmente le taux de minéralisation du  $[C^{14}]PCP$ . Pour un même temps d'incubation (5 jours), moins de 20% de la minéralisation s'est produit sur la courbe «sol et eau» où aucun ajout de nutriments n'a été réalisé. En effet, la présence de nutriments tels que l'azote et le phosphore est essentielle pour la croissance des microorganismes. Dans les sols contaminés où les concentrations en nutriments sont souvent très faibles, l'addition de nutriments constitue un moyen d'augmenter le taux de biodégradation des contaminants organiques tels que les hydrocarbures (Lewis et al 1996). Par conséquent, dans toutes les expériences, en microcosmes ou en bioréacteur, des nutriments ont été ajoutés à la phase liquide à raison de 10% (v/v) de MSM.



**Figure 4.2: Courbe de minéralisation du PCP A) une semaine après l'échantillonnage, B) un mois et demi après l'échantillonnage**



L'expérience de minéralisation illustrée à la Figure 4.2A a été réalisée une semaine après la cueillette de sol sur le site d'Hydro-Québec et celle illustrée à la Figure 4.2B a été réalisée un mois et demi après cette dernière. La comparaison des Figure 4.2A et 4.2B fait ressortir l'apparition d'une phase de latence d'environ 8 jours lors de la conservation du sol à long terme.

Lors de l'inoculation d'un milieu frais, la courbe de croissance obtenue, en traçant le logarithme du nombre de cellules en fonction du temps, comprend quatre phases: 1) une période initiale où il ne semble pas y avoir de croissance, c'est la phase de latence; 2) ensuite, apparaît une phase rapide de croissance, c'est la phase exponentielle; 3) puis un nivellement, c'est la phase stationnaire; et finalement 4) un déclin de la population viable s'ensuit, c'est la phase de déclin ou de décroissance faute de substrat (Pelczar et al. 1982).

Les sols conservés à 4°C ayant été oxygénés lors de l'échantillonnage, il est probable que la quantité de PCP contenue initialement (environ 20 mg/kg) ait été dégradée après plusieurs jours de conservation. Les microorganismes dégradeurs de PCP seraient donc passés de la phase exponentielle, caractérisée par une division cellulaire à un taux constant et des activités métaboliques constantes, à la phase stationnaire, caractérisée par un épuisement des nutriments et un nombre de cellules viables formant un plateau. C'est pourquoi, lors de la deuxième expérience en microcosmes (Figure 4.2B), la minéralisation débute seulement après 8 jours d'incubation et après l'ajout d'un nouveau substrat.

En effet, lorsque des cellules sont transférées d'une culture en phase stationnaire dans un milieu frais de même composition, il s'ensuit alors un changement de composition chimique des cellules avant qu'elles soient en mesure de se remettre à croître; c'est cette période d'ajustement qui est appelée la phase de latence (Stanier et al. 1986). En ce qui a trait à l'expérience illustrée à la Figure 4.2B, ce phénomène est attribué à la

réorganisation nécessaire dans la cellule afin de renverser les changements causés par la cessation de la croissance faute de substrat; la composition des enzymes et de l'ARN des cellules devant être partiellement renouvelée pendant cette phase de latence (Pirt, 1975).

L'apparition d'une phase de latence après un certain temps de conservation des échantillons de sol n'est pas un phénomène systématique. En effet, des observations en laboratoire montrent l'absence de phase de latence lors des différentes expériences de minéralisation réalisées. Ces échantillons étant plus concentrés en PCP au départ que ceux utilisés dans ce projet, et conservés dans les mêmes conditions, il resterait donc du substrat dans ces échantillons après un certains temps de conservation.

#### 4.2.3 CHOIX DU GÉOTEXTILE APPROPRIÉ<sup>2</sup>

Suite à une recherche auprès des différents fabricants de géotextiles (section 2.4.2.1), les trois retenus ont été: MTC 48-4400 (Matador convertisseur cie ltée), 375 PP 100 (Texel inc) et 400 PE A1 SSP (Texel inc.). Le géotextile choisi doit offrir une bonne perméabilité à l'eau mais pas au sol. Le Tableau 4.2 résume les perméabilités au sol et à l'eau des trois géotextiles étudiés.

**Tableau 4.2: Perméabilités au sol et à l'eau de trois géotextiles**

Géotextile	perméabilité au sol	perméabilité à l'eau (cm/s)
MTC 48-4400	élevée	0,32
375 PP 100	moyenne	0,85 ± 0,05
400 PE A1 SSP	faible	1,08 ± 0,12

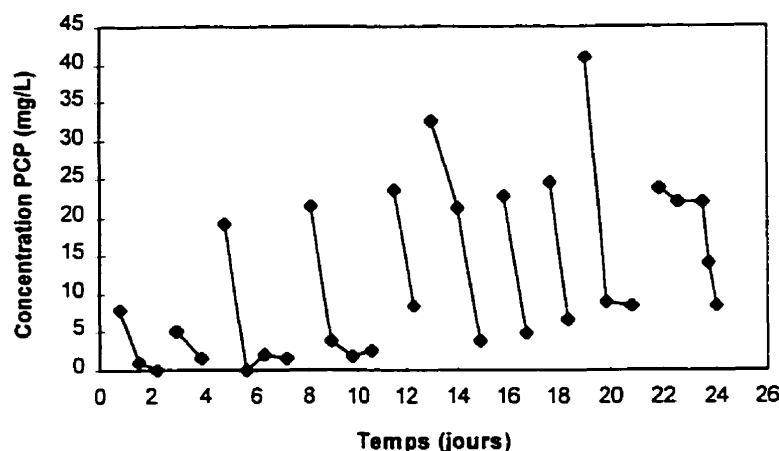
<sup>2</sup>Les résultats discutés dans cette section ont été obtenus par Patricia Goulet (1996) lors de la réalisation de son projet de fin d'études.

Suite à ces différentes expérimentations, le géotextile ayant les propriétés adéquates pour les expériences en bioréacteur (une bonne perméabilité à l'eau et une faible perméabilité au sol) a été sélectionné, il s'agit du géotextile 400 PE A1 SSP de la compagnie Texel inc. (Montréal).

#### **4.2.4 ADAPTATION DES MICROORGANISMES DÉGRADEURS DE PCP EN BIORÉACTEUR À COLONNE**

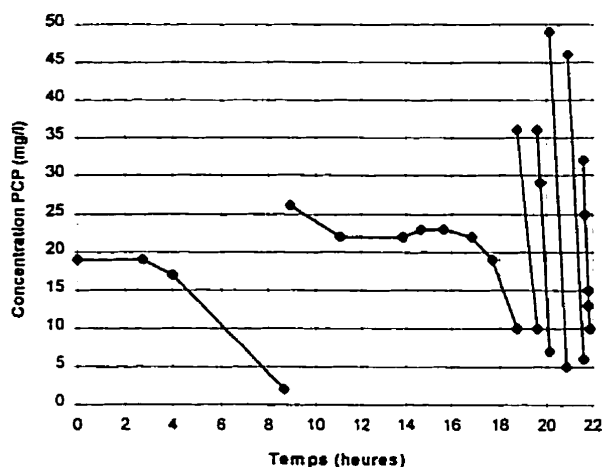
Les conditions opératoires du bioréacteur en colonne favorisent la biodégradation des polluants. En effet, l'aération apporte un niveau d'oxygène adéquat pour les microorganismes dégradeurs, la présence de nutriments en quantité suffisante aide ces derniers à atteindre un taux de dégradation élevé et le support permet aux microorganismes de se fixer et donc d'obtenir une croissance plus rapide.

En premier lieu, il est nécessaire d'activer les microorganismes qui sont conservés à 4°C, afin d'éliminer la phase de latence et d'obtenir un taux de biodégradation d'au moins 20mg/l-h. L'expérience débute en mode cuvée afin de permettre aux microorganismes de s'adapter à leur nouveau milieu qui consiste en de la biomasse déjà active provenant d'un bioréacteur en continu du même type, 10 % (v/v) de MSM et 10 mg/l de PCP. La courbe de la dégradation du PCP en fonction du temps est présentée à la Figure 4.3. Une première injection de 8 mg/l de PCP est dégradée en moins de 24 heures. Par la suite, différentes concentrations de PCP ont été ajoutées en augmentant la quantité de PCP de façon graduelle, jusqu'à ce qu'un taux de dégradation du PCP d'environ 20 mg/l-jr soit atteint.



**Figure 4.3: Biodégradation du PCP en bioréacteur en mode cuvée**

Une seconde expérience d'adaptation des microorganismes pour le biodégradation du PCP a été réalisée dix mois après l'échantillonnage des sols sur le site d'Hydro-Québec. Les résultats du taux de dégradation du PCP en fonction du temps d'incubation, illustrés à la Figure 4.4, viennent confirmer l'hypothèse formulée précédemment selon laquelle les microorganismes perdent de leur activité lorsque le temps de conservation du sol ([PCP]~20 mg/l) est long. En effet, en comparant les Figure 4.3 et Figure 4.4, l'apparition d'un temps de latence lors de la première injection spontanée "spike" ajoutée au second bioréacteur est à noter; pour une concentration de 20 mg/l, lors d'une première injection, une période de latence de 34 heures est nécessaire avant que toute biodégradation débute à la Figure 4.4. Par ailleurs, les taux de dégradation du PCP passent de 0,2 mg/l à 5 mg/l en 24 jours, pour la première expérience en bioréacteur, et de 0,1 mg/l à 4 mg/l pour la seconde en 22 jours. Ceci montre que la présence d'une phase de latence n'a pas d'influence sur les taux de dégradation atteints lors de l'adaptation des microorganismes en bioréacteur en mode cuvée.



**Figure 4.4: Biodégradation du PCP en mode cuvée suite à une période de 6 mois de conservation des microorganismes dégradeurs**

La pente de la courbe de la concentration en PCP correspond au taux de dégradation dans un bioréacteur en mode cuvée. Tandis que le taux de dégradation dans un réacteur en mode continu se calcule selon la formule suivante:

$$\tau = [C_{in} - C_{out}] \frac{Q}{V} \quad (12)$$

où  $\tau$  = taux de dégradation

$C_{in}$  = concentration en mg/l à l'entrée du bioréacteur

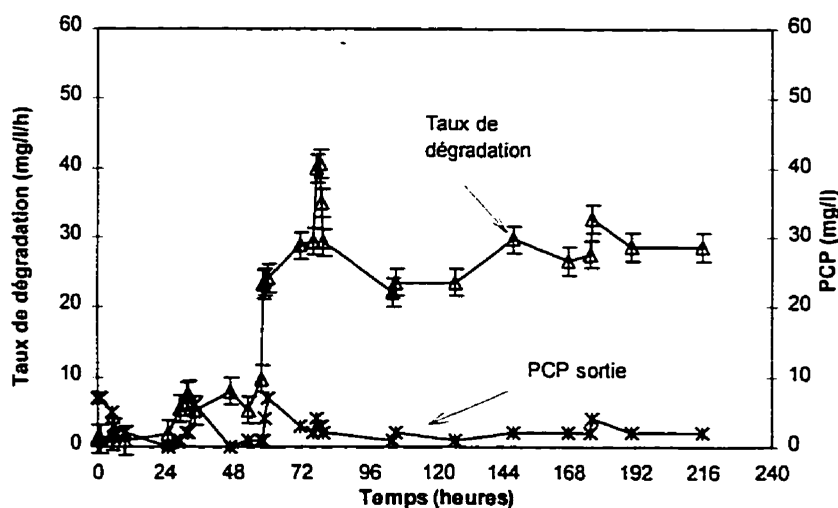
$C_{out}$  = concentration à la sortie du bioréacteur

$Q$  = Débit de l'affluent

$V$  = volume du bioréacteur

Lorsque le taux de dégradation du PCP demeurerait sensiblement le même dans le temps, la décision de mettre le réacteur en continu était prise. En effet, dans un système en mode cuvée, les nutriments s'épuisent et les produits s'accumulent ce qui rend difficile le maintien de la stabilité d'un biofilm (Characklis et Marshall, 1990). Une solution de 20

mg/l de PCP dans du NaOH 4,65N a été ajoutée à de l'eau distillée contenant 10% de MSM. Cette solution était initialement pompée à un débit de 1,4 ml/min ( $T = 24$  hres). Ensuite, lorsque la concentration de PCP dans le réacteur était près de zéro, graduellement, le débit a été augmenté à un taux de dégradation inférieur de 50% du débit actuel, par exemple le taux de dégradation du PCP était augmenté de 1,2 mg/l-h à 1,7 mg/l-h. Le débit a été augmenté jusqu'à ce que la valeur de la dégradation du PCP désirée soit atteinte (environ 20 mg/l-h). La Figure 4.5 illustre l'adaptation des microorganismes du sol en système opéré en continu. Les taux de dégradation du PCP atteint (29 mg/l-h) ont été limités volontairement, ce type de bioréacteur a été utilisé par Karamanev et al. (1996) et peut atteindre des taux de dégradation du PCP allant jusqu'à 22 g/l-jr (917 mg/l-h).



**Figure 4.5: Acclimatation du PCP en bioréacteur en mode continu**

Le taux de dégradation atteint, une fois le système stabilisé était de 29 mg/l-h. Ces valeurs sont comparables à celle obtenues par Otte et al. (1994) en bioréacteur en phase boueuse, qui était de 700 mg/l-jr (29,2 mg/l-h). Au début de l'opération du bioréacteur en

mode continu, la concentration en PCP à l'entrée du bioréacteur doit être augmentée de façon graduelle afin de ne pas intoxiquer les microorganismes. Lorsque les microorganismes ont été adaptés aux nouvelles conditions, telles qu'un mouvement du liquide du haut vers le bas et un ajout de PCP en continu, la concentration en PCP à la sortie se rapprochait de zéro. Cette stabilité a été atteinte en moins de 72 heures. Cette période est aussi appelée la période d'acclimatation.

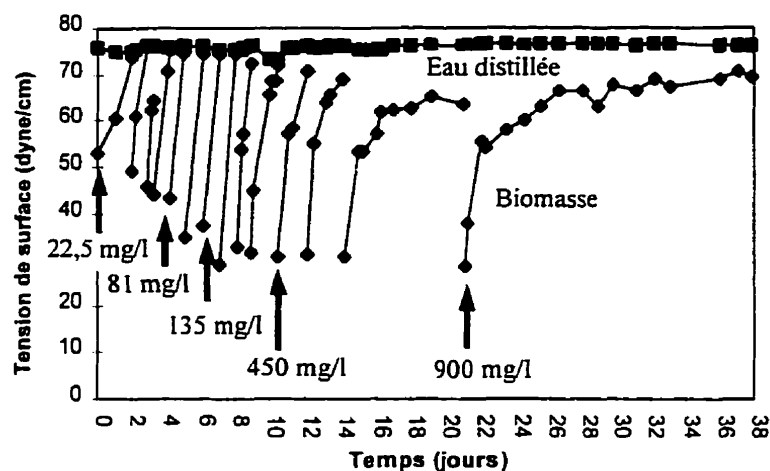
### 4.3 BIODÉGRADATION DU WITCONOL SN 70

Les résultats de l'expérience de DBO, obtenus à la section 3.2, ont montré que le Witconol SN 70 était biodégradable par les microorganismes présents dans le sol choisi. Les expériences qui suivent ont été réalisées en bioréacteur selon le même principe que celui utilisé pour le pentachlorophénol. Les microorganismes dégradant le Witconol SN 70 étant présents dans les sols, ces derniers ont été utilisés comme inoculum pour les expériences de biodégradation du Witconol SN 70 en bioréacteurs.

#### **4.3.1 ADAPTATION DES MICROORGANISMES DÉGRADEURS DE WITCONOL SN 70 EN BIORÉACTEUR À COLONNE**

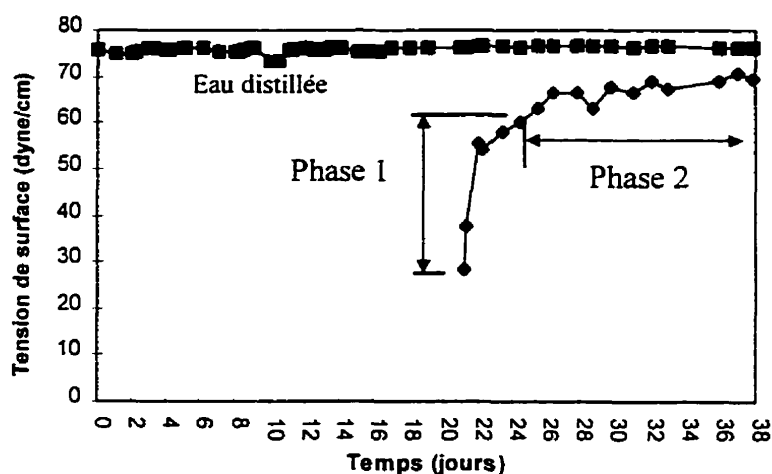
Plusieurs expériences de biodégradation du Witconol SN 70 en bioréacteur ont été réalisées. Le suivi de la dégradation du Witconol SN 70 pour la première expérience en bioréacteur, illustrée à la Figure 4.6, s'est fait par tensiométrie. La courbe identifiée "eau distillée" représente la référence pour laquelle la concentration de Witconol SN 70 est de zéro, et celle identifiée «biomasse» représente la tension de surface du liquide dans le bioréacteur. Une augmentation de la tension de surface dans le bioréacteur correspond à une diminution de la concentration en Witconol SN 70. Les résultats montrent qu'une augmentation de la tension de surface s'est produite pour des concentrations de surfactants inférieures à 450 mg/l; et qu'il y a un ralentissement du taux d'augmentation de la tension du surface du Witconol SN 70 pour les concentrations supérieures à cette valeur, soit 675, 810 et 900 mg/l. Cette augmentation de la tension est associée à la biodégradation du Witconol SN 70. Cette expérience a permis de constater que la concentration critique du Witconol SN 70 pour laquelle la biodégradation est ralentie se situe autour de 450 mg/l.





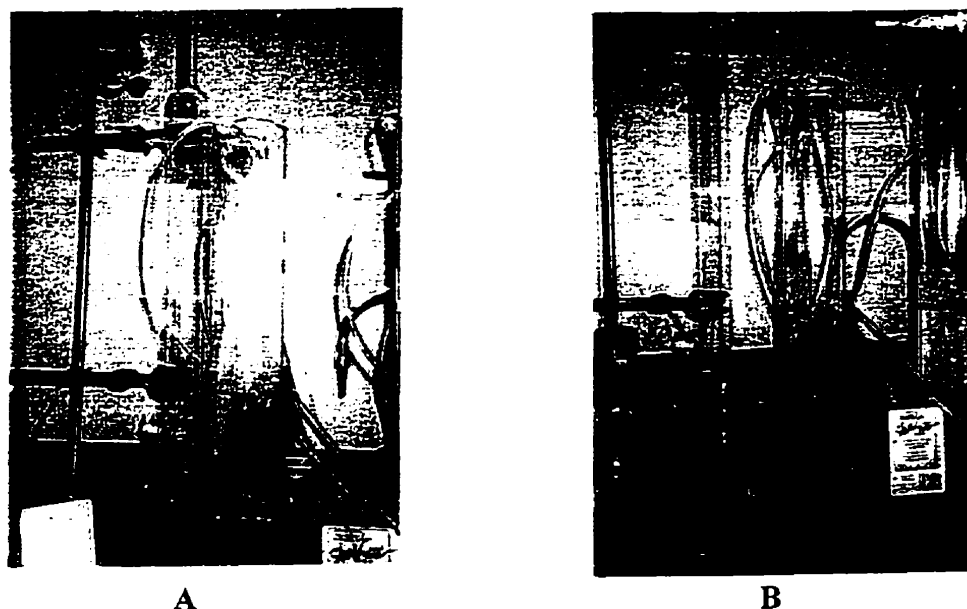
**Figure 4.6: Biodégradation du Witconol SN 70 en bioréacteur en mode cuvée**

Par ailleurs, en raison de la grande quantité de mousse produite, les courbes représentées à la Figure 4.6 se divisent en deux phases, illustrées à la Figure 4.7. La première est l'apparition d'une phase d'équilibre entre la mousse et le liquide, la concentration réelle dans le bioréacteur est donc inférieure à la concentration injectée. Par ailleurs, cet équilibre n'étant pas instantané, lorsque la concentration en Witconol SN 70 était supérieure à 81 mg/l, une quantité de mousse est perdue à l'extérieur du bioréacteur. La phase 1 représente les pertes abiotiques. Finalement, la phase 2 de la courbe correspond à la biodégradation.



**Figure 4.7: Phases de dégradation du Witconol SN 70 en bioréacteur**

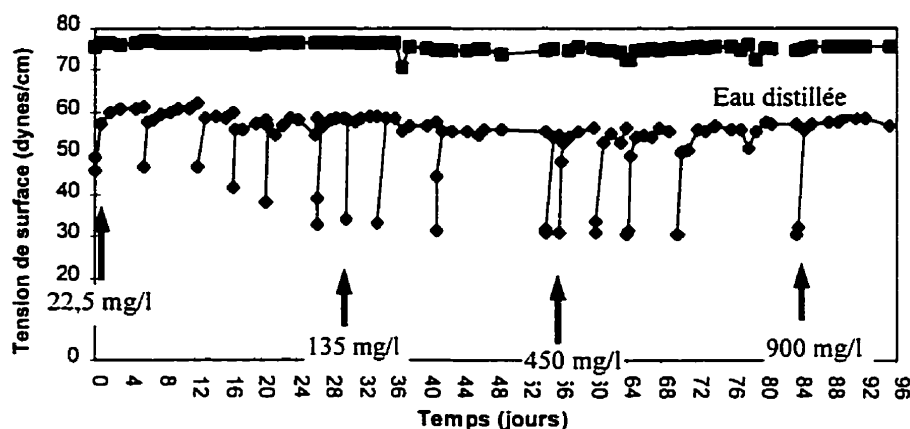
Lors de l'inoculation du bioréacteur par le Witconol SN 70 à des concentrations  $> 81$  mg/l et à un débit d'aération de 1500 cc/min-l, la présence d'une mousse abondante a été observée. La Figure 4.8 présente des photos du bioréacteur à colonne au moment de l'inoculation (A) et après dégradation (B). La présence d'une mousse trop abondante occasionne des problèmes. En effet, il est reconnu que les surfactants désorbent les contaminants des sols, il est donc possible d'extrapoler ceci à la mousse en admettant que les contaminants seront également entraînés par la mousse. Une étude de Lipe (1996) vient confirmer cette hypothèse. Cet auteur a montré qu'il y a entraînement des contaminants par les surfactants et que plus la concentration en agent tensioactif augmente, plus la séparation contaminant-surfactant diminue. De même, ces auteurs ont montré que cet effet augmente en présence d'un contaminant à caractère hydrophobe et d'un surfactant à grand potentiel de solubilisation.



**Figure 4.8: Photos du bioréacteur à colonne représentant la problématique de la mousse**

Afin de déterminer le volume de mousse perdu à l'extérieur du bioréacteur, un essai témoin a été réalisé. Ce dernier contenait un géotextile et une solution de Witconol SN 70 à base d'eau distillée. Les courbes obtenues à la Figure 4.9 ont montré que la quantité de Witconol SN 70 perdue par le bullage, lorsque le taux d'aération était de 1500 cc/min-l, la tension de surface maximale atteinte se situait alors autour de 60 dynes/cm, ce qui correspond à une concentration de 6,3 mg/l. Notons que la transformation dynes/cm en % (v/v) a été calculée en comparant les valeurs de la tension de surface à celle de la courbe de CMC (section 3.1.3.1), pour être ensuite retransformées en mg/l.

Ce graphique montre l'importance des pertes abiotiques en Witconol SN 70. Ces pertes nuisent à la dégradation car les microorganismes se retrouvent toujours en contact avec de faibles concentrations en agents tensioactifs et peuvent donc difficilement s'adapter à de fortes concentrations et peuvent être entraînés par la mousse produite. La Figure 4.9 montre que l'équilibre entre la phase mousse et le liquide dans le bioréacteur, lorsque l'aération est à un taux de 1500 cc/min-l, s'établissait au bout de 24 heures. La tension de surface mesurée était alors d'environ 60 dynes/cm.



**Figure 4.9: Perte de Witconol SN 70 par bullage**

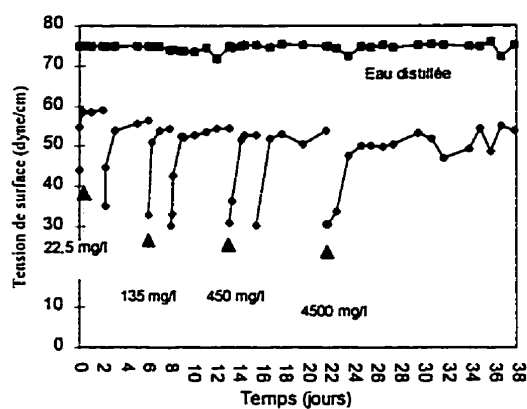
Suite à ces constats, les résultats de la Figure 4.6 peuvent donc être remis en question. Il est important de mentionner que les montages étaient constitués d'un cylindre de 2 litres rempli avec seulement 1 litre de solution aqueuse afin de conserver le plus grand volume de mousse possible à l'intérieur du cylindre. Lorsque le Witconol SN 70 était présent en faibles concentrations (jusqu'à 81 mg/l), aucune mousse n'était perdue à l'extérieur du cylindre. Les seules pertes étaient par bullage, i.e. par la formation d'un équilibre entre la phase mousse et la phase aqueuse du bioréacteur. Cependant, pour ces faibles concentrations (celles où aucune mousse ne sort du cylindre) le Witconol SN 70 était dégradé, car il a été observé, pour une concentration ajoutée de 31,5 mg/l, qu'après 24 heures d'incubation, il n'y avait plus aucune mousse formée et la tension de surface était de 76,1 dynes/cm, pour une eau distillée à 76,1 dynes /cm. Tandis que sur le graphique de la Figure 4.9, durant les trois premiers jours d'incubation, la tension de surface est passée de 56,7 dynes/cm à 59,9 dynes/cm pour enfin demeurer autour de 61 dynes/cm (63 mg/l) durant trois jours supplémentaires.

Ces résultats ont permis de conclure que la biodégradation était présente dans l'expérience illustrée à la Figure 4.6 et que les pertes par bullage étaient non négligeables. Par conséquent, une diminution du débit d'air a été envisagée, elle permettrait une diminution de l'épaisseur de la mousse, et donc une diminution des pertes abiotiques.

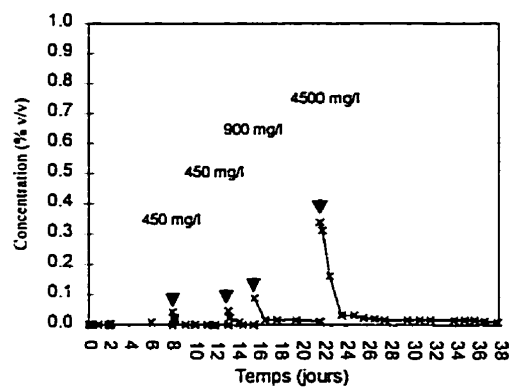
#### **4.3.2 EFFET DE L'AÉRATION SUR LA PERTE PAR BULLAGE**

Les expériences sur l'influence de l'aération sur la perte de mousse ont été réalisées dans un cylindre de 2 litres dans lequel un litre d'eau distillée a été ajouté; aucune membrane de géotextile, ni aucun nutriments n'ont été ajoutés. Deux débits d'aération ont été comparés, soit 1500 cc/min et 150 cc/min. Le débit d'aération de 1500 cc/min correspond à celui utilisé dans les expériences précédentes, autant pour la dégradation du PCP, que pour celle du Witconol SN 70.

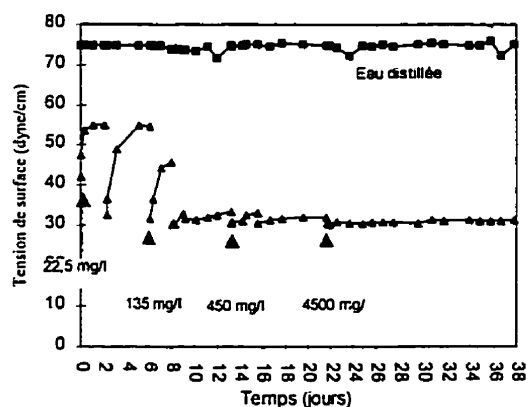
Les deux témoins ont été suivis par tensiométrie et par HPLC, les résultats sont illustrés à la Figure 4.10. Le graphique de la tension de surface en fonction du temps du témoin à 1500 cc/min (Figure 4.10A) est comparable à celui réalisé à la section précédente (Figure 4.9). En effet, un plateau est rapidement observé autour de 54 dynes/cm (9 mg/l). Toutefois cette concentration est légèrement plus élevée que celle dans le témoin de la Figure 4.9 (+2,7 mg/l), ce qui peut s'expliquer par un bullage légèrement différent d'un témoin à l'autre. Les résultats de la Figure 4.10A et 4.10B ont montré que la perte de Witconol SN 70 par moussage était trop importante dans un bioréacteur aéré à un débit de 1500 cc/min pour conclure à la biodégradation de grandes concentrations de Witconol SN 70 dans un tel bioréacteur. Les résultats ont été mesurés par tensiométrie et par HPLC. Cependant, la limite de détection du HPLC étant de 90 mg/l, les premières courbes des Figure 4.10 B et 4.10D débutent à des concentrations ajoutées de 450 mg/l.



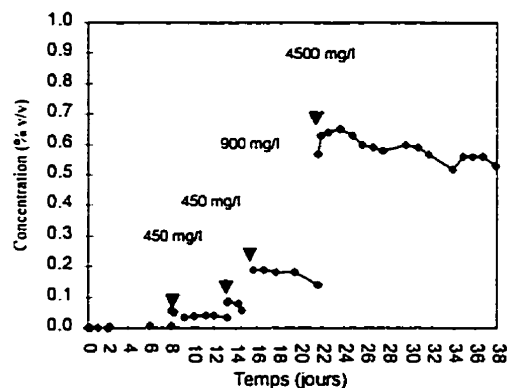
A



B



C



D

**Figure 4.10: Effet du débit d'aération sur la quantité de mousse produite par bullage A) 1500 cc/min, suivi par tensiométrie; B) 1500 cc/min suivi par HPLC; C) 150 cc/min, suivi par tensiométrie; D) 150 cc/min suivi par HPLC**

En contrepartie, les résultats de la Figure 4.10C et 4.10D montrent que, lorsque le taux d'aération a été diminué à 150 cc/min-l, la perte de Witconol SN 70 par bullage est pratiquement inexistante. En effet, pour de faibles concentrations, l'augmentation de la tension de surface du liquide observée à la Figure 4.10C était attribuable à l'équilibre créé entre les phases mousse et liquide. Pour les concentrations au-dessus de 450 mg/l de Witconol SN 70, aucune augmentation de la tension de surface n'a été observée, indiquant que la concentration demeurerait toujours au-dessus de la CMC, d'où l'importance d'analyser ces échantillons au HPLC. Les résultats de la Figure 4.10D montrent qu'il y a accumulation du Witconol SN 70, car les concentrations mesurées au moment où sont effectuées les injections, sont plus élevées que la concentration ajoutée. En effet, lors de l'ajout de 900 mg/l de Witconol SN 70 dans le témoin à 150 cc/min, la concentration mesurée par HPLC a été de 1800 mg/l, indiquant une accumulation du Witconol SN 70 de 900 mg/l dans le liquide.

À la lumière de ces résultats, la biodégradation du Witconol SN 70 à un débit d'aération de 150 cc/min a été réalisée dans les mêmes conditions que les témoins, i.e. un litre de solution aqueuse dans un cylindre de 2 litres. La Figure 4.11 illustre les résultats de cette expérience. Plus précisément, les graphiques des Figure 4.11A et 4.11C présentent le suivi du bioréacteur par tensiométrie et HPLC, respectivement, tandis que les Figure 4.11B et 4.11D reprennent les résultats obtenus avec les témoins de l'expérience sur l'influence de l'aération illustrée à la Figure 4.10, afin de pouvoir bien comparer et comprendre les résultats.

À l'exception des concentrations sous la CMC (0,015% v/v, soit 135 mg/l), il est évident que la biodégradation du Witconol SN 70 s'est produite. En effet, pour les faibles concentrations, aucune différence significative n'apparaît entre le témoin et le bioréacteur; tandis que pour les concentrations > 135 mg/l, une hausse significative de la tension de surface est observée (Figure 4.11A), par rapport à la tension de surface

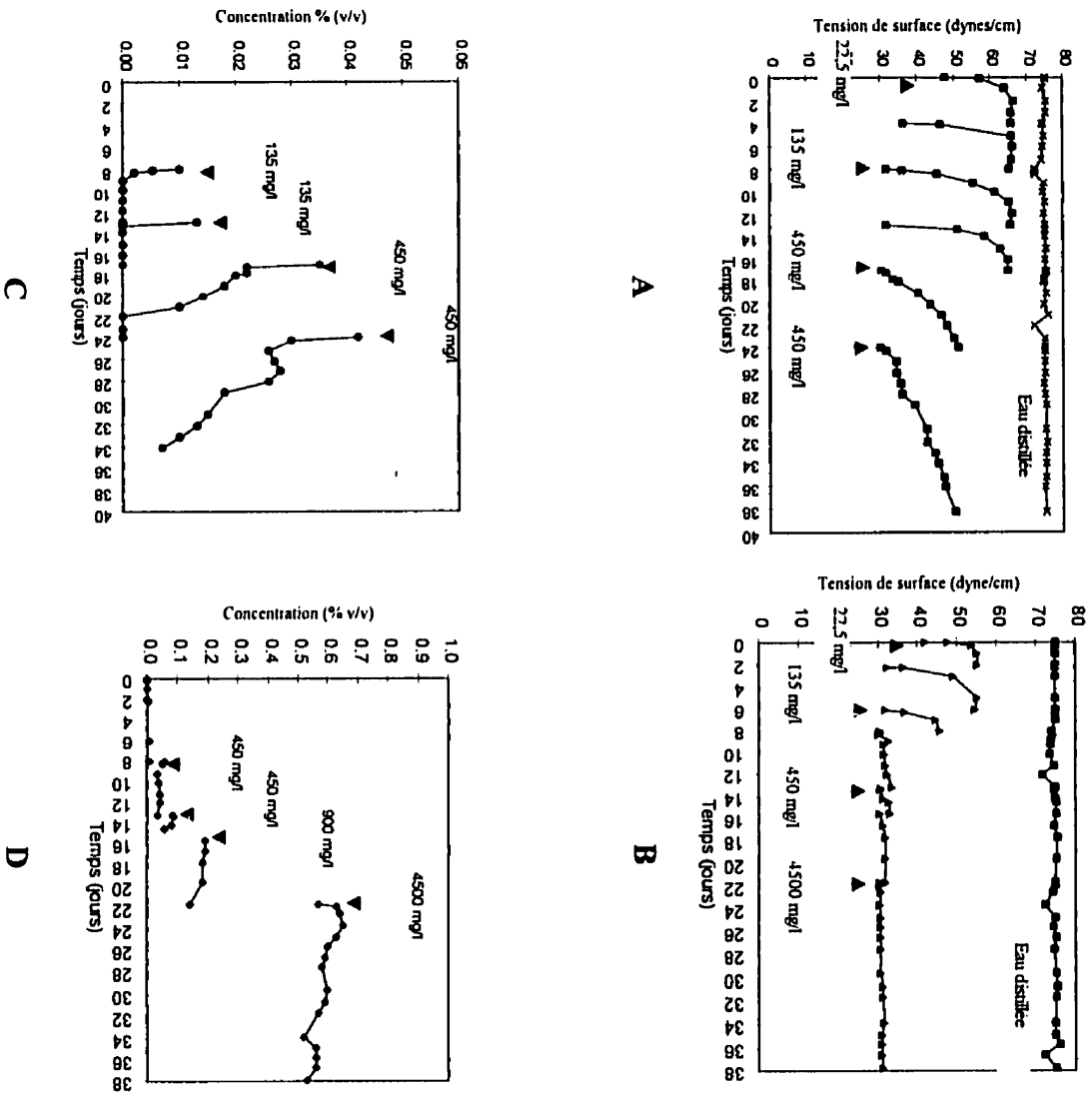


Figure 4.11: Dégradation du Witconol SN 70 à un débit d'aération de 150 cc/min A) suivi par tensiométrie; B) témoin; C) suivi par HPLC; D) témoin



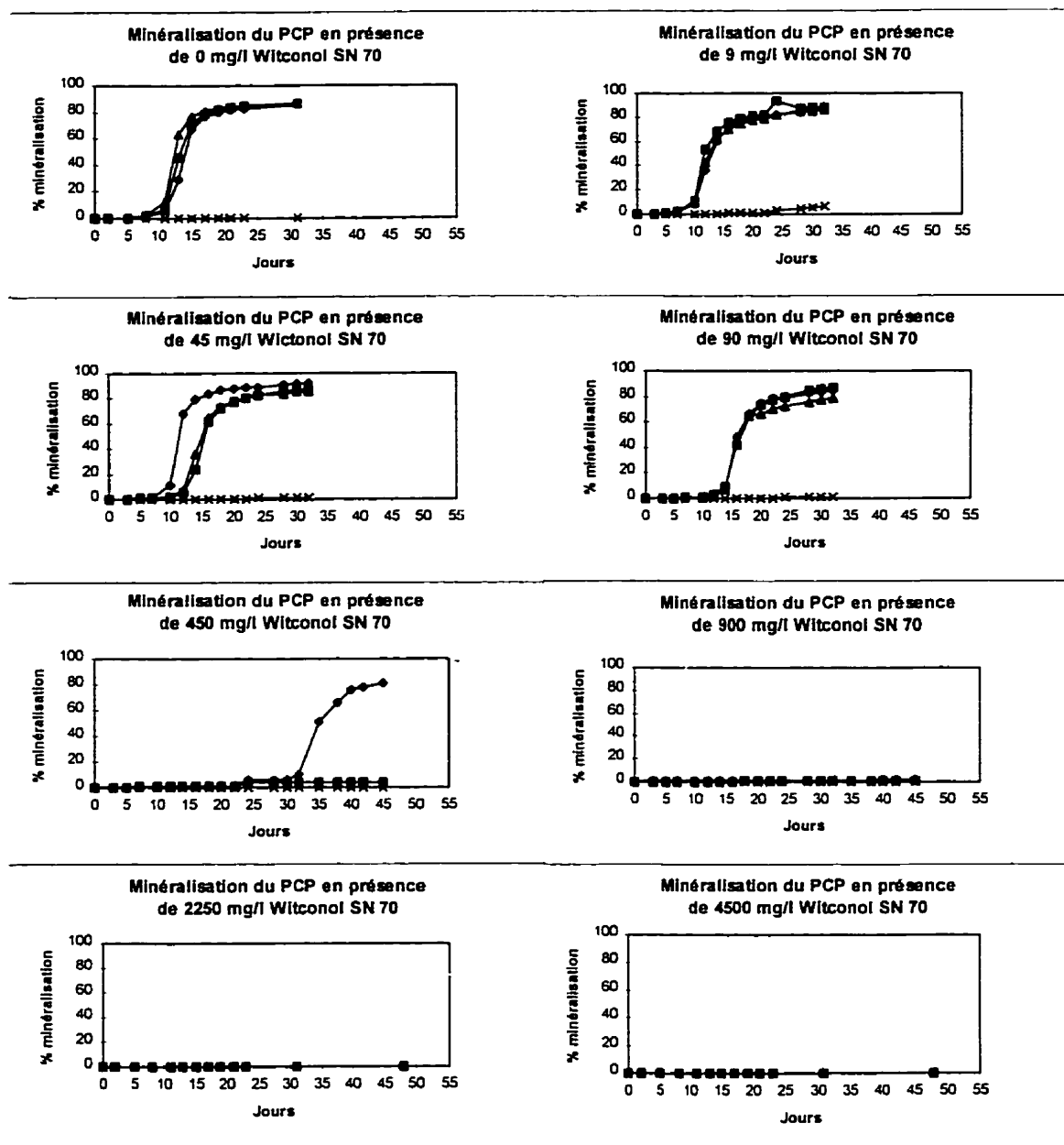
mesurée (Figure 4.11B). De même, les valeurs mesurées par HPLC démontrent une biodégradation du Witconol SN 70 en comparaison avec le témoin. En effet, la concentration en Witconol SN 70 diminue de 450 mg/l à une valeur sous la limite de détection de l'appareil (90 mg/l) en moins de 33 jours.

En conclusion, l'aération est un paramètre important à prendre en compte lors de la biodégradation d'un agent tensioactif dans un bioréacteur tel que celui conçu par Karamanev et al. (1996). Malgré une diminution importante du débit d'aération, le niveau d'oxygène dissous est suffisant pour permettre la biodégradation du Witconol SN 70.

#### 4.4 INHIBITION DE LA BIODÉGRADATION DU PCP PAR LE WITCONOL SN 70

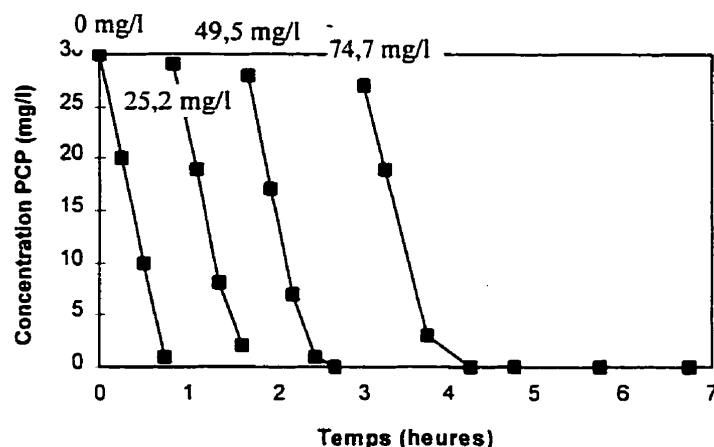
L'ajout du Witconol SN 70 peut influencer la biodégradation du PCP par les microorganismes indigènes du sol, il peut être soit toxique, soit inhibiteur, selon les concentrations en présence. La Figure 4.12 montre que l'ajout de Witconol SN 70 à certaines concentrations inhibe la biodégradation du PCP par les microorganismes indigènes du sol. En effet, les résultats montrent que la concentration critique de Witconol SN 70 se situe autour de 450 mg/l. Au-delà de cette concentration, la biodégradation du PCP est complètement inhibée. Cette concentration est supérieure à la concentration micellaire critique du Witconol SN 70 qui est de 135 mg/l (0,015% v/v). Notons que cette dernière représente la concentration à laquelle apparaissent les micelles dans le liquide. Étant donné que ce sont ces micelles qui entraînent les contaminants dans le liquide, ces résultats peuvent s'expliquer, entre autres, par une diminution de la biodisponibilité des contaminants dans les micelles, ou même par la toxicité des micelles de surfactant pour les microorganismes.

Par exemple, des résultats ont montré que l'addition de surfactants nonioniques à des concentrations inférieures à la CMC n'a pas affecté la biodégradation du phénanthrène, tandis que pour des concentrations supérieures à la CMC, la biodégradation du phénanthrène a été complètement arrêtée (Laha et Luthy 1991; 1992). Les auteurs ont expliqué les résultats obtenus par la non disponibilité, pour les microorganismes, du contaminant incorporé dans les micelles. La possible utilisation du surfactant par la microflore du sol comme substrat préférentiel est aussi une explication possible. En effet, Tiehm (1994) a interprété les résultats d'une étude montrant que la présence d'un agent tensioactif chimique tel que le SDS avait complètement arrêté la biodégradation du phénanthrène, comme une utilisation préférentielle du SDS par les microorganismes.



**Figure 4.12: Influence de la concentration de Witconol SN 70 sur la biodégradation du PCP en microcosmes**

De même, l'influence de la présence de Witconol SN 70 sur la biodégradation du PCP a été vérifiée en bioréacteur pour de faibles concentrations d'agent tensioactif ajoutée. La dégradation du PCP en mode cuvée, suivie par HPLC, a été mesurée en fonction de la concentration de Witconol SN 70 ajoutée. La concentration de PCP ajoutée initialement était toujours de 30 mg/l et la concentration de Witconol SN 70 ajoutée augmentait graduellement de 25,2; 49,5 et 74,4 mg/l. La Figure 4.13 montre que lorsque la concentration de surfactant augmente, même pour de faibles concentrations (sous la CMC), le taux de dégradation du PCP diminue, montrant ainsi que la biodégradation du PCP est influencée par la présence de Witconol SN 70. Ces résultats concordent avec ceux obtenus à la Figure 4.12 et peuvent également s'expliquer, entre autres, par la probable compétition du Witconol SN 70 comme substrat pour les microorganismes dégradeurs de PCP.



**Figure 4.13: Influence de faibles concentrations de Witconol SN 70 sur la biodégradation du PCP en bioréacteur**

Les taux de dégradation obtenus au Tableau 4.3 sont illustrés en comparaison avec la concentration en Witconol SN 70 cumulée dans le bioréacteur. En effet, la dégradation

du PCP se produisant en moins d'une heure, le Witconol SN 70 n'avait pas le temps d'être dégradé par les microorganismes. Il est à noter qu'un antimoissant, le SAG 10 de la compagnie Union Carbide de Montréal, a été ajouté afin d'éviter la formation de mousse et donc la diminution des concentrations en Witconol SN 70 dans le liquide. Les expériences réalisées pour le choix de cet antimoissant sont décrites en annexe G.

**Tableau 4.3: Influence de l'ajout de Witconol SN 70 sur la biodégradation du PCP en bioréacteur en mode cuvée**

<b>Taux de dégradation du PCP (mg/l-h)</b>	<b>Concentration en Witconol SN 70 cumulée dans le bioréacteur (mg/l)</b>
39	0
36	25,2
36	74,7
32	153

Les résultats du Tableau 4.3 corroborent ceux obtenus en microcosmes. En effet, le taux de dégradation initial dans le bioréacteur était de 39 mg/l-h et a diminué à 36 mg/l-h dès l'ajout de Witconol SN 70. De plus, une seconde diminution a été constatée (de 36 mg/l-h à 32 mg/l-h) pour une concentration cumulée de 153 mg/l de Witconol SN 70. Cette concentration est légèrement au-dessus de la CMC du Witconol SN 70, qui est de 135 mg/l. Ces résultats suggèrent que la biodégradation simultanée du PCP et du Witconol SN 70 dans un même bioréacteur serait impossible si les concentrations des deux composés étaient importantes.

#### 4.5 CONCLUSION

Le bioréacteur à sol immobilisé conçu par Karamanev et al. (1996) et décrit au chapitre 1 (section 1.3.2) a été choisi comme système d'étude en raison de ses performances et des conditions favorables au traitement de solution de lavage de sol qu'il possède. La biodégradation du PCP ainsi que celle du Witconol SN 70 ont été étudiées dans ce bioréacteur. Le taux de dégradation du PCP à atteindre était de 20 mg/l-h, ce qui a été réalisé après une période d'adaptation et d'acclimatation des microorganismes. Par contre, pour obtenir une dégradation du Witconol SN 70 dans un tel bioréacteur, il a été nécessaire de fixer le taux d'aération à 150 cc/min-l afin d'éviter la formation d'un trop grande quantité de mousse.

Finalement, l'effet inhibiteur du Witconol SN 70 sur la biodégradation du PCP a été démontrée en microcosmes et en bioréacteur. Ceci implique que, pour le traitement d'une solution de lavage de sol ayant de fortes concentrations en Witconol SN 70, un bioréacteur ne contenant qu'une seule section ne sera pas efficace. C'est pourquoi, l'utilisation d'un bioréacteur séquentiel est envisagée et les expériences s'y rattachant sont discutées au chapitre 5.

## **Chapitre 5 : Essai pilote**

*Ce dernier chapitre est la suite logique des expériences réalisées au chapitre 4. Maintenant que l'interaction entre le Witconol SN 70 et le PCP a été établie, pour arriver à décontaminer une eau contenant ces deux produits, il est nécessaire de diminuer la concentration du Witconol SN 70 sous la concentration critique de 450 mg/l. Pour ce faire, un bioréacteur séquentiel a été utilisé pour effectuer l'essai pilote. Ce bioréacteur devrait permettre un comportement hydrodynamique CSTR dans chacune des sections et un comportement global piston. La particularité de ce bioréacteur serait de permettre la biodégradation de façon séquentielle des produits en présence, le Witconol SN 70 et le PCP, la séquence prévue étant Witconol SN 70 → Witconol SN 70 + PCP → PCP. Finalement, la dernière partie du chapitre porte sur les modifications à apporter au bioréacteur pour accroître ses performances de biodégradation.*

## 5.1 ADAPTATION EN BIORÉACTEUR DES MICROORGANISMES POUR LA DÉGRADATION DU PCP ET DU WITCONOL SN 70

L'essai pilote consiste à traiter une solution synthétique contenant du PCP et du Witconol SN 70 dans un même bioréacteur, en tenant compte des interactions entre ces produits. Avant de passer à l'étape d'essai pilote, il a été nécessaire d'immobiliser, d'adapter et d'acclimater la biomasse provenant du sol choisi (section 2.2). Le bioréacteur séquentiel, décrit à la section 2.5.4, a été utilisé pour l'essai pilote de traitement d'une solution à contamination mixte (PCP + Witconol SN 70).

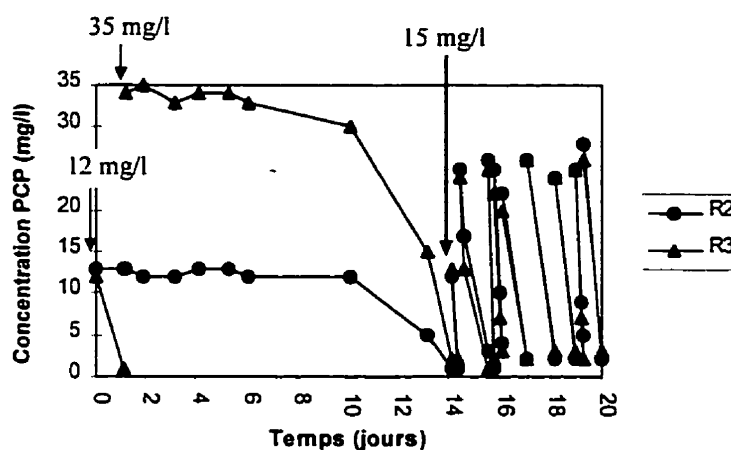
Les expériences du chapitre précédent ont montré qu'il était essentiel d'acclimater les microorganismes dégradeurs si un taux élevé de dégradation est désiré. La concentration en Witconol SN 70 d'une solution de lavage de sol peut s'élever jusqu'à 4500 mg/l et celle du PCP est d'environ 20 mg/l (Abdul et al. 1992; Tobia et al. 1994). Pour dégrader de telles concentrations, les microorganismes doivent préalablement avoir été acclimatés séparément dans des bioréacteurs tels que celui développé par Karamanev et al. (1996) et utilisés dans les expériences du chapitre 4.

L'adaptation des microorganismes s'est effectuée dans des réacteurs rectangulaires de 10 litres en verre (section 2.5.4.1). Une quantité de 50 g de sol a été immobilisée sur les membranes de géotextile de 30 cm x 18 cm. Deux géomembranes ont servi de support au développement de microorganismes dégradeurs de PCP. La Figure 5.1 illustre l'adaptation de ces microorganismes à la dégradation du PCP en mode cuvée.

Deux sections du montage ont servi à l'adaptation des microorganismes pour la biodégradation du PCP (R2 et R3) dans les mêmes conditions expérimentales. Cependant, un premier ajout de 12 mg/l de PCP dans chacun des bioréacteurs a provoqué un comportement différent de la part des microorganismes. En effet, dans le bioréacteur R3, les 12 mg/l de PCP ont été dégradés en moins de 24 heures; tandis que dans le



bioréacteur R2, une période de latence est apparue dès l'ajout du 12 mg/l de PCP et a duré 10 jours. Dans le bioréacteur R3, une période de latence de 5 jours est apparue lors d'un second ajout de 35 mg/l de PCP. La phase de latence dans le bioréacteur R3 est probablement causée par l'écart entre les deux concentrations ajoutées; il aurait été préférable d'ajouter la même quantité de PCP, soit 12 mg/l, que lors de la première injection. L'observation de la Figure 5.1 permet de constater qu'après l'ajout de 15 mg/l de PCP, les deux bioréacteurs ont eu des taux de dégradation semblables. Les taux de dégradation finaux dans le bioréacteur R2 en mode cuvée ont été de 1,4 mg/l-h, et de 1,3 mg/l-h pour le bioréacteur R3. Les taux de dégradation du PCP ont augmenté graduellement d'une valeur de 0,9 mg/l-h jusqu'à 1,4 mg/l-h.



**Figure 5.1: Adaptation des microorganismes pour la dégradation du PCP en mode cuvée**

Cette différence dans les comportements des microorganismes peut s'expliquer par l'hétérogénéité des sols. En effet, il est fort probable que les particules de sol immobilisées utilisées pour l'adaptation des microorganismes dans le bioréacteur aient été en contact avec des concentrations plus élevées que 20 mg/kg (section 4.2.2), ce qui permet de conclure qu'ils n'étaient pas en phase stationnaire. Par contre, l'ajout d'une concentration de 35 mg/l a entraîné le phénomène de phase de latence expliqué en 4.2.2.

Cependant, pour cette expérience, la phase de latence serait causée par l'inhibition entraînée par une trop grande augmentation de la concentration de PCP ajoutée. En effet, du à l'hétérogénéité des sols, il est possible que l'échantillon de sol ayant été immobilisé dans le bioréacteur R3 ait été en présence d'une plus grande concentration en PCP que les échantillons de sol utilisés dans les autres expériences. Ceci expliquerait que la dégradation se soit produite immédiatement lors de l'ajout de 12 mg/l de PCP et qu'ensuite, lors de l'ajout de 35 mg/l de PCP, une phase de latence soit apparue.

L'acclimatation a été poursuivie en mode continu afin de favoriser le développement du biofilm. Le taux initial de dégradation de 1,2 mg/l-h a été augmenté jusqu'à une valeur de 12 mg/l-h. Les résultats obtenus à la section 4.3 ayant montré que l'adaptation des microorganismes pour la dégradation du Witconol SN 70 était beaucoup plus lente que celle pour la biodégradation du PCP ainsi que par souci d'économie, le taux de dégradation du bioréacteur dégradant le PCP a été volontairement maintenu à 9 mg/l-h pendant un mois; soit jusqu'à ce que le bioréacteur dégradant le Witconol SN 70 soit mis en continu.

L'acclimatation des microorganismes pour la dégradation du Witconol SN 70 a été très lente. En effet, une concentration de 22,5 mg/l était dégradé sur une période de 10 jours initialement. Par la suite, la dernière concentration ajoutée en mode cuvée était de 90 mg/l et elle était dégradée en moins de 3 jours. Finalement, le taux de dégradation atteint en mode continu a été de 18 mg/l-h. Ce taux de dégradation du Witconol SN 70 est beaucoup plus faible que celui du PCP. Étant donné que le bioréacteur pilote contient seulement quatre sections, la concentration de départ en Witconol SN 70 de la solution mixte (PCP + Witconol SN 70) sera moins élevée que celle à atteindre de 450 mg/l. En fait, il sera possible par la suite d'augmenter la concentration en Witconol SN 70 tout en maintenant celle du PCP constante à 20 mg/l dans le bioréacteur séquentiel.

## 5.2 ESSAI EN BIORÉACTEUR SÉQUENTIEL À SOL IMMOBILISÉ

Avant de débiter l'expérience en bioréacteur, un transfert des supports a été réalisé. En effet, l'acclimatation des microorganismes pour la biodégradation du PCP et du Witconol SN 70 a été réalisée dans des bioréacteurs séparés, les supports doivent donc être récupérés et acclimatés aux conditions du bioréacteur. Les dimensions du bioréacteur sont illustrées à la Figure 5.2.

Cette étape a été déterminante dans l'efficacité du bioréacteur. En effet, lors du transfert, les biofilms présents sur les supports se sont décrochés en raison du poids de l'eau accumulée à l'intérieur de la géomembrane. Une fois la microflore détruite il est nécessaire de la régénérer. Après une période d'acclimatation de 20 jours, la formation de nouveaux biofilms étaient visibles à l'oeil nu. Après certains ajustements, les paramètres expérimentaux à l'entrée étaient: 12 mg/l de PCP, 117 mg/l de Witconol SN 70, un débit de 2,4 l/hre, un  $\bar{t}=17,5$  heures et un pH=7,1. Malgré la croissance des biofilms, le PCP n'était toujours pas dégradé; il est fort probable que pour la croissance de ces biofilms les nutriments ont servis de substrats et non le Witconol SN 70 ou le PCP. L'essai a donc été arrêté après 20 jours de fonctionnement. Une légère dégradation du Witconol SN 70 a été observée dans la première section du bioréacteur seulement, la concentration passait de 117 mg/l, à l'entrée du bioréacteur, jusqu'à 54 mg/l à la sortie de la première section. Les concentrations mesurées dans les trois sections suivantes étaient identiques.

Par ailleurs, le déménagement des supports entraîne nécessairement une perte de performance de la part des microorganismes causée par le changement des conditions environnementales. Ce phénomène n'a pas été pris en compte. En effet, il aurait été préférable d'acclimater les microorganismes à des taux de dégradation beaucoup plus élevés que ceux fixés pour le traitement en bioréacteur séquentiel. Par exemple, le taux

de dégradation du PCP pourrait être de 40 mg/l-h et celui du Witconol SN 70 4500 mg/l-h.

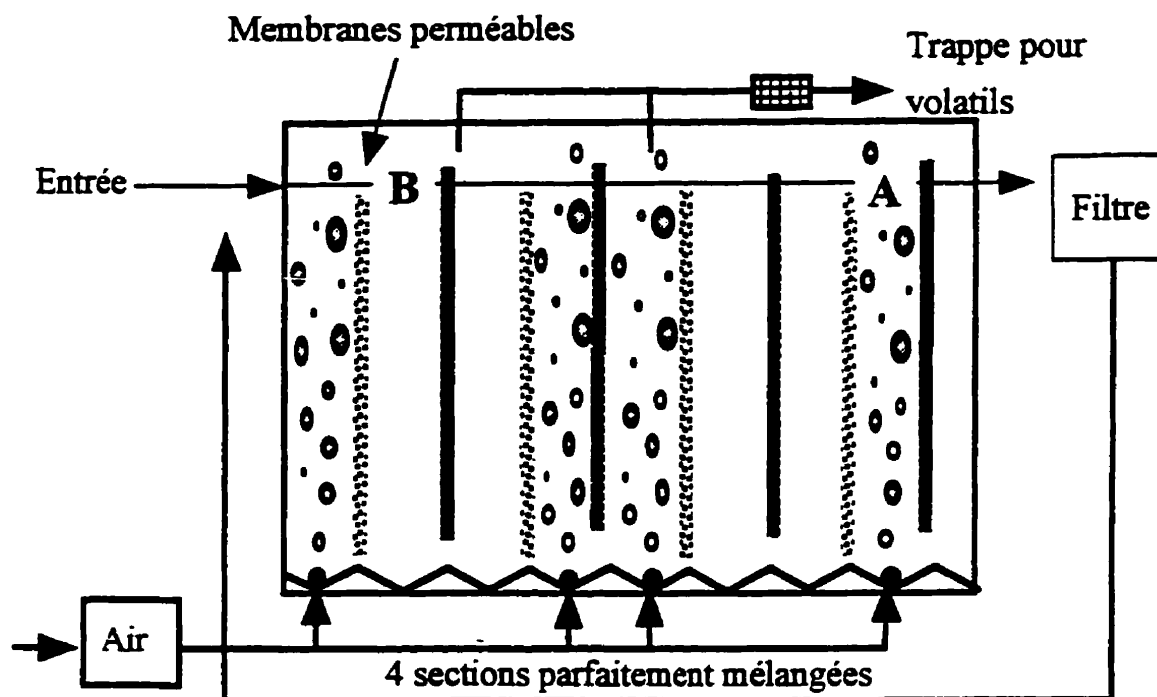


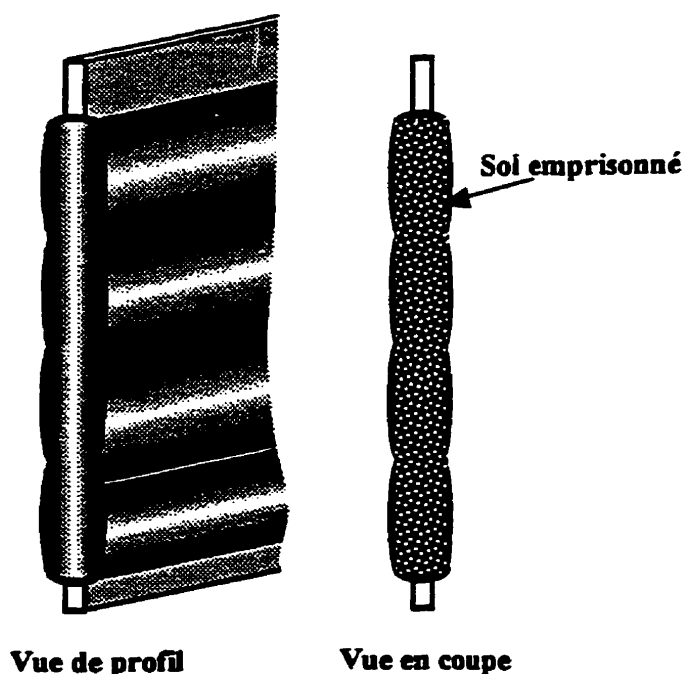
Figure 5.2: Schéma du bioréacteur séquentiel à sol immobilisé à 4 sections

De même, la dégradation du Witconol SN 70 étant beaucoup plus lente que celle du PCP, intégrer un nombre supplémentaire de sections adaptées à la dégradation du Witconol SN 70 permettrait d'augmenter l'efficacité du bioréacteur séquentiel. En effet, lors des différentes expériences réalisées au chapitre 4, il a été montré que lorsqu'en présence de concentrations élevées en surfactants, les microorganismes étaient beaucoup moins performants. Le système de bioréacteur séquentiel peut alors permettre de diminuer l'importance de ce phénomène. À cet égard, les microorganismes des premières sections auraient un taux de dégradation très faible. Cependant, ils contribueraient à augmenter l'efficacité de la prochaine section en diminuant légèrement la concentration en Witconol SN 70 et donc en permettant aux microorganismes de la section suivante d'être en contact avec des concentrations moins élevées et donc plus facilement biodégradable. Il ne faut

## **NOTE TO USERS**

**Page(s) not included in the original manuscript are unavailable from the author or university. The manuscript was microfilmed as received.**

**UMI**



**Figure 5.3: Pochettes de sol**

Au début de la période d'acclimatation en bioréacteur séquentiel, une mousse apparaissait moins de 5 minutes après le début de l'expérience. Ceci indique que la concentration en Witconol SN 70 était rapidement distribuée partout dans le bioréacteur et donc qu'il y avait fort probablement des chemins préférentiels. Les résultats attendus étaient une biodégradation du Witconol SN 70 dans les premières sections afin de permettre la biodégradation du PCP dans les dernières.

Des expériences qualitatives réalisées à l'aide de deux traceurs, le NaCl et la fluoresceine, ont montré que le liquide dans le bioréacteur séquentiel tendait plutôt à se distribuer rapidement dans tout le bioréacteur séquentiel et non seulement dans chacune des sections individuelles. Cette distribution du Witconol SN 70 dans les dernières sections du bioréacteur a pu entraîner l'arrêt de la dégradation du PCP en détruisant les microorganismes ou encore en agissant comme substrat primaire pour les microorganismes dégradeurs de PCP. Les paramètres influençant la distribution du

liquide dans le bioréacteur séquentiel doivent donc être étudiés plus en profondeur et modifiés.

Le schéma de la Figure 5.4 montre la circulation du liquide dans le bioréacteur. Un mouvement circulaire est présent dans chaque section, le liquide circule de la zone aérée (faible pression) vers la zone non aérée (haute pression). Par la suite, chaque section est séparée par une membrane imperméable qui force le liquide à circuler par la partie inférieure du bioréacteur. Une zone de pression identique doit se retrouver de chaque côté des membranes imperméables afin de renforcer la séparation entre les sections.

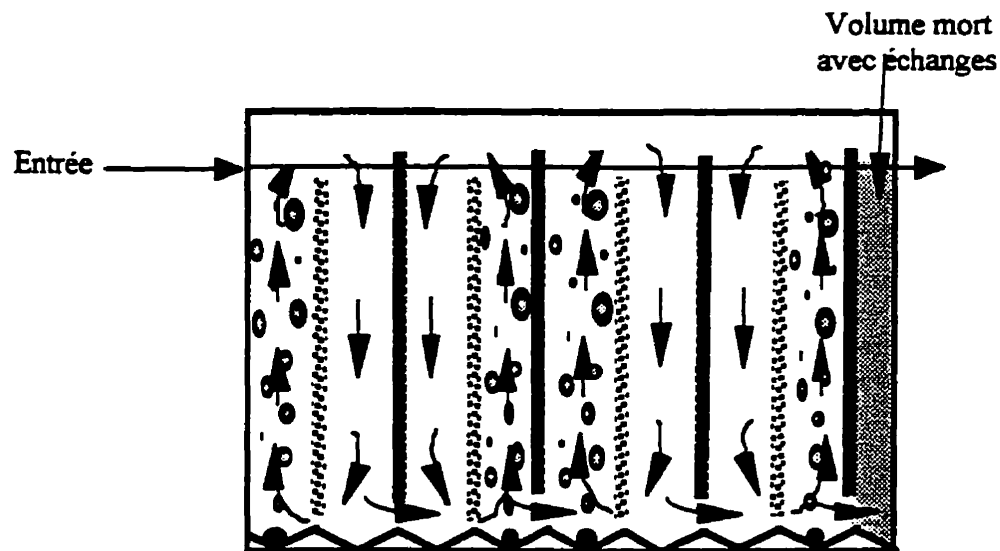
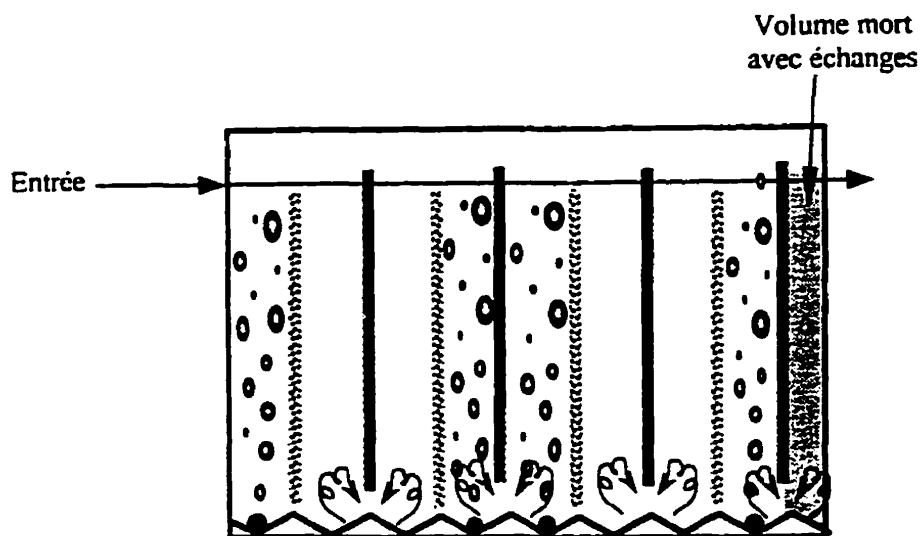


Figure 5.4: Schématisation de la circulation du liquide dans le bioréacteur

Le comportement global du bioréacteur est influencé par la présence de zones de perturbations, illustrée à la Figure 5.5. Ces perturbations créent un «retour» du liquide vers la section précédente améliorant le mélange dans le bioréacteur. Un allongement des membranes imperméables, diminuant l'espace entre ces dernières et le fond du bioréacteur, permettrait de diminuer ces perturbations. En effet, plus cet espace sera petit

et plus la vitesse de l'écoulement y circulant sera grande, ce qui permettrait d'éviter les "retours" entraînés par une faible vitesse telle que celle observé ( $\sim 0,1$  cm/s).



**Figure 5.5: Volume mort et perturbations dans le bioréacteur**

Le comportement hydrodynamique global du bioréacteur, associé au décrochage du biofilm, explique que la biodégradation du PCP ait été arrêtée dans ce bioréacteur. En effet, un comportement global complètement mélangé entraîne un mélange et donc une uniformisation de la concentration en Witconol SN 70 dans le bioréacteur, et donc nuit à la régénération d'un biofilm permettant la biodégradation du PCP.

Les résultats obtenus dans cette section ont permis d'envisager les modifications suivantes dans la conception du bioréacteur: l'élimination de la dernière semi-section et l'allongement des membranes perméables, permettant ainsi une diminution de la section ouverte entre les sections du bioréacteur.



## 5.4 CONCLUSION

L'essai pilote réalisé en bioréacteur séquentiel a permis de développer les principaux paramètres influençant ce type de bioréacteur. Le traitement de solutions riches en agents tensioactifs et en PCP selon cette méthode, est réalisable moyennant la modification de certains paramètres de conception. En effet, le décrochement des biofilms lors du transfert des géomembranes du bioréacteur servant à l'adaptation vers le bioréacteur séquentiel est la principale cause de l'arrêt de la biodégradation dans le bioréacteur. Plusieurs solutions sont envisagées afin de pallier ce phénomène.

Par ailleurs, la modification de certains paramètres entraîne nécessairement des essais supplémentaires en bioréacteur. Ces essais, présentés dans la section recommandations, peuvent servir de lignes directrices pour un projet futur.

## Conclusion générale

La présence dans les solutions de lavage d'un agent tensioactif chimique et d'un polluant récalcitrant à la biodégradation rend difficile la mise en place d'un bioprocédé de traitement efficace. Les technologies existantes pour le traitement de telles solutions consistent principalement en une séparation physique ou chimique de l'agent tensioactif et du polluant. La plupart des technologies étudiées s'étant montrées inefficace, un traitement par voie biologique a été envisagé.

En raison de l'utilisation d'un bioprocédé pour le traitement des eaux de lavage de sol, l'agent tensioactif choisi pour le projet, le Witconol SN 70, est non toxique, biodégradable et efficace pour un lavage de sol *IN SITU*. Les concentrations utilisées pour le projet se situant dans les limites des méthodes analytiques du Witconol SN 70, deux méthodes complémentaires ont été utilisées pour l'analyser, la tensiométrie et la chromatographie liquide à haute performance.

L'utilisation d'un bioréacteur gazo-siphon à sols immobilisés a permis d'obtenir des vitesses de biodégradation élevées à la fois du polluant et de l'agent tensioactif lorsqu'étudiés séparément. Cependant, pour le traitement d'une solution à contamination mixte dans un même bioréacteur, l'effet inhibiteur du surfactant sur la biodégradation du contaminant nécessite la conception d'un bioréacteur permettant de réduire ce phénomène.

Un essai pilote en bioréacteur séquentiel à sol immobilisé a permis de déterminer les principaux paramètres influençant la performance de biodégradation d'un bioréacteur pour traiter des solutions à contamination mixte contenant un agent tensioactif. Ces

paramètres sont l'effet inhibiteur de l'agent tensioactif sur la biodégradation du polluant, la fragilité du biofilm, les cinétiques de dégradations différentes du polluant et de l'agent tensioactif, le comportement hydrodynamique du bioréacteur et finalement l'aération. Les résultats de cette recherche ont permis d'établir les bases de conception pour un bioréacteur séquentiel utilisant des sols activés immobilisés.

## **Recommandations**

### **OPTIMISATION DES PARAMÈTRES DE CONCEPTION DU BIORÉACTEUR SÉQUENTIEL**

L'arrêt de la biodégradation dans le bioréacteur séquentiel lors de l'essai pilote entraîne l'ajustement de plusieurs paramètres avant la réalisation d'un second essai. Le but principal de ce chapitre est donc de décrire certaines expériences supplémentaires à réaliser pour améliorer les performances du bioréacteur séquentiel.

### **ADAPTATION ET ACCLIMATATION DU CONSORTIUM BACTÉRIEN**

L'adaptation des microorganismes nécessite une longue période. Il a été constaté, pour le sol recueilli sur le site d'Hydro-Québec, qu'une période de latence était toujours présente après un certain temps de conservation des échantillons. Cette dernière a duré jusqu'à 10 jours lors de la biodégradation du PCP. Afin de diminuer le temps des expérimentations, il serait préférable d'utiliser un sol fraîchement recueilli ou encore un sol plus contaminé, afin que les microorganismes ne passent pas à la phase stationnaire par manque de substrat.

Par ailleurs, lors du transfert des membranes, un décrochage du biofilm a été observé. Afin d'éviter ce phénomène, des modifications au bioréacteur séquentiel ont été proposées, soit adapter les microorganismes à l'intérieur du bioréacteur séquentiel en imperméabilisant la séparation entre les sections de façon temporaire, soit la création de pochettes de sol en remplacement des supports en géotextile.

Également, avant le transfert des géomembranes, une acclimatation des microorganismes permettrait une augmentation de leur efficacité. En effet, si les microorganismes n'ont jamais été en contact avec les deux produits, il est possible que le contact avec une solution hautement concentrée ait des effets néfastes sur leur performance. Il serait donc préférable, une fois les microorganismes adaptés au PCP, par exemple, d'introduire une solution contenant PCP et Witconol SN 70 dans le bioréacteur servant à adapter les microorganismes. De cette façon, ils auront déjà été en contact avec la solution telle qu'elle sera dans le bioréacteur séquentiel.

Dans un autre ordre d'idées, des expériences supplémentaires seraient nécessaires afin de vérifier si le taux de dégradation du PCP et du Witconol SN 70 sera modifiée par l'ajout de solutions ne contenant pas de MSM. Ces expériences pourraient être effectuées une fois les microorganismes adaptés dans les conditions décrites au chapitre 4 (i.e. avec 10% de MSM). Ces expériences permettraient de déterminer si l'ajout de MSM à une solution provenant d'un lavage de sol réel est nécessaire pour le bon fonctionnement du procédé.

Finalement, l'eau distillée devrait éventuellement être remplacée par de l'eau provenant du robinet, i.e. une eau potable contenant des produits chlorés et autres impuretés. Ces dernières expériences doivent être réalisées en bioréacteur séquentiel, car elles consistent à vérifier les performances du procédé dans des conditions non idéales.

#### **NOMBRE DE SECTIONS POUR CHACUN DES CONTAMINANTS**

Tel que mentionné au chapitre 5 (section 5.2.1), un nombre supplémentaire de sections permettant la dégradation du Witconol SN 70 permettrait une diminution de la concentration de ce dernier dans un délai plus rapide que celui observé au chapitre 4 en bioréacteur à colonne (section 4.3.2). En effet, le temps de biodégradation du Witconol SN 70 se calcule en jours et même parfois en semaines selon les concentrations,

comparativement avec celui du PCP qui se calcule en heures voire même en minutes lorsque les microorganismes sont adaptés.

L'expérience à réaliser consiste donc à adapter plusieurs géomembranes contenant du sol immobilisé (entre 5 et 10) pour ensuite effectuer une expérience en bioréacteur séquentiel permettant la biodégradation du Witconol SN 70 seulement. De cette façon, le nombre de sections peut être ajusté selon les performances atteintes et à atteindre. De même, en modifiant la longueur des membranes imperméables tel que mentionné à la section 5.1.2, il serait alors possible d'avoir une meilleure séparation entre les différentes sections et donc d'améliorer l'effet piston du bioréacteur séquentiel.

## LE SUIVI

Les solutions traitées sont considérées comme non toxiques, mais le sont-elles vraiment? En effet, une étude de Middaugh et al. (1993) a montré que lors d'une biodégradation incomplète du PCP, les métabolites intermédiaires de dégradation du PCP sont toxiques ou tératogènes. Il est donc primordial de faire des analyses d'écotoxicité de la solution traitée à la sortie du bioréacteur.

Finalement, une étude permettant de vérifier le métabolisme complet de dégradation du Witconol SN 70 ainsi qu'une analyse microbiologique permettant de cibler les microorganismes responsables de la biodégradation de chacun des produits (PCP et Witconol SN 70) permettraient de mieux comprendre les interactions entre le PCP et le Witconol SN 70.

Enfin, la solution traitée est-elle recyclable? Peut-on la réintroduire dans le procédé, moyennant un ajout de solution de surfactants permettant d'atteindre les concentrations nécessaires pour effectuer un lavage de sol efficace? La réponse à cette question viendra

une fois les diverses expériences sur la toxicité des produits (PCP et Witconol SN 70) et le métabolisme de dégradation du Witconol SN 70 réalisées.

### **COMPORTEMENT HYDRODYNAMIQUE**

Plusieurs paramètres peuvent modifier le comportement hydrodynamique du bioréacteur séquentiel. Les principaux sont: le débit d'aération des sections, le débit d'entrée de la solution à traiter et la présence de biofilms sur les géomembranes. Une fois les modifications suggérées apportées au bioréacteur séquentiel, il serait intéressant de connaître l'influence de ces paramètres sur son comportement hydrodynamique.

Enfin, plusieurs améliorations peuvent être apportées au procédé afin d'en améliorer ses performances. Il ne suffit que d'un peu de patience et beaucoup d'heures de travail pour y arriver.

## INFLUENCE DU CHANGEMENT DE CONTAMINANT ET D'AGENT TENSIOACTIF SUR LE COMPORTEMENT DES MICROORGANISMES

D'autres expériences peuvent être réalisées afin de permettre une utilisation commerciale du procédé. En premier lieu, il est important de vérifier si le changement d'agent tensioactif a une grande influence sur le comportement des microorganismes. Y a-t-il un surfactant dégradable plus facilement que le Witconol SN 70 par les microorganismes indigènes d'un sol?

Le PCP commercial étant une solution du PCP dans de l'huile diesel no 2, il serait important de vérifier la viabilité du procédé pour une solution contenant ce type de contamination. En général, les hydrocarbures étant facilement biodégradables, le procédé devrait avoir un bon potentiel de contamination.

De même, ce procédé peut certainement être efficace pour d'autres contaminants récalcitrants. Des études supplémentaires pourraient apporter une alternative intéressante à certains traitements plus radicaux, tels que l'incinération.

En résumé, le traitement de solutions de lavage de sol en bioréacteur séquentiel est un procédé prometteur, il suffit simplement d'y apporter quelques améliorations. Mais pour cela, plusieurs expériences doivent être de nouveau réalisées.



## Références bibliographiques

ABDUL, A.S., et ANG, C.C. (1994). *In situ surfactant washing of polychlorinated biphenyl's and oils from a contaminated field site: Phase II pilot study.* Ground Water, 32, (5), 727-734.

ABDUL, A.S. et GIBSON T.L. (1991). *Laboratory studies of surfactant-enhanced washing of polychlorinated biphenyl from sandy material.* Environmental Science and Technology, 22, (4), 665-671.

ABDUL, A.S., GIBSON, T.L., ANG, C.A. et SMITH, J.C., SOBCZYNSKI, R.E. (1992). *In situ surfactant washing of polychlorinated biphenyl's and oils from a contaminated site.* Ground Water, 30, (2), 219-231.

ABDUL, A.S., GIBSON, T.L. et RAI, D.N. (1990). *Selection of surfactant for the removal of petroleum products from shallow sandy aquifers.* Ground Water, 28, (6), 920-926.

ALEXANDER, M. (1994). *Biodegradation and Bioremediation*, Academic Press, inc., San Diego, California, 302.

ANG, C.C. et ABDUL, A.S. (1992). *A laboratory study of the biodegradation of an alcohol ethoxylated surfactant by native soil microbes.* Journal of Hydrology, 138, 191-209.

ARCAND, Y., HAWARI, J. et GUIOT, S. (1995). *Solubility of pentachlorophenol in aqueous solutions: the pH effect*. Water Research, 29, (1), 131-136.

ARONSTEIN, et al. 1991, *Environmental Science and Technology*, 25, 1728-1731.

ARSENAULT, R.D. (1978). Wood preservatives - treatment processes and product applications. Proc. Tech. Transf. Seminar, Timber Proc. Indust. March 10-11, 1977. Environnement Canada EPS Rept. EPS 3-WP-78-1. Toronto, 20-27.

BARBEAU, C. (1996). Bioaugmentation de sols contaminés au pentachlorophénol par la méthode des sols activés. Mémoire de maîtrise, École Polytechnique de Montréal, Canada, 161.

BHANDARI, A., DOVE, D.C. et NOVAK, J.T. (1994). *Soil washing and biotreatment of petroleum-contaminated soils*. Journal of Environmental Engineering, 120, (5), 1151-1169.

BOYD, S.T., MIKESELL, M.D. et LEE, J.-F. (1989). Chlorophenols in soils. Reactions and Movement of Organic Chemicals in Soils, SSSA Special publication no.22.

BURNS, R.G. (1989). *Microbial and enzymic activities in soil biofilms*, in: Structure and function of biofilms, éditeurs: W.G. Characklis et P.A. Wilderer, John Wiley & Sons Ltd, S. Bernhard, Dahlem Konferenzen, 1989, 333-349.

BURY, S.J. et MILLER, C.A. (1993). *Effect of micellar solubilization on biodegradation rates of hydrocarbons*. Environmental Science and Technology, 27, (1), 104-110.

CHARACKLIS, W.G. et COORSEY, K.E. (1983). *Biofilms and microbial fouling*, in: *Advances in applied microbiology*, vol 29, Academic Press, inc., San Diego, California, 93-137.

CHARACKLIS, W.G. et MARSHALL, K.C. (1990). Biofilms, John Wiley & Sons, inc., Wiley series in ecological and applied microbiology, 796.

CHAWLA, R.C., PORZUCEK, C., CANNON, J.N. et JOHNSON, J.H. (1991). *Importance of soil-contaminant-surfactant interactions for in situ soil washing*, Emerging technologies in hazardous waste management II, éditeurs D.W. Tedder et F.G. Pohland, ACS Symposium series 316-341.

CIRELLI, D.P. (1978a). Patterns of pentachlorophenol usage in the United States of America - an overview. Pentachlorophenol: Chemistry, Pharmacology, and Environmental Toxicology. K.R.Rao (éd), Plenum Press, New York, 13-18.

CIRELLI, D.P. (1978b). Pentachlorophenol position document 1. Federal Register 43, 48446-48477.

CLARKE, A.N., MUTCH, R.D., WILSON, D.J. et OMA, K.H. (1992). *Design and implementation of pilot scale surfactant washing/flushing technologies including surfactant reuse*. Water Science Technology, 26, (1-2), 127-135.

CLINE, S.R. et REED, B.E. (1995). *Lead removal from soils via bench-scale soil washing techniques*. Journal of Environmental Engineering, 121, (10), 700-705.

CROSBY, D.G., BEYNON, K.I., KORTE, F., STILL, G.G., VONK, J.W. et GREVE, P.A. (1981). *Environmental chemistry of pentachlorophenol*. Pure and Applied Chemistry, 53, 1051-1080.

DAVIS, A., CAMPBELL, J., GILBERT C., RUBY, M.V., BENNETT, M. et TOBIN S. (1994). *Attenuation and biodegradation of chlorophenols in ground water at a former wood treating facility*. Ground Water, 32, (2) 248-257.

DAVIS A.P. et SINGH, I. (1995). *Washing of zinc (II) from contaminated soil column*. Journal of Environmental Engineering, 121, (2), 174-185.

DESCHÊNES, L., LAFRANCE, P., VILLENEUVE, J.-P. et SAMSON R. (1995a). *Surfactant influence on PAH biodegradation in a creosote-contaminated soil*. Microbial processes for bioremediation. Edited by Robert E. Hinchee, 51-58.

DESCHÊNES, L., LAFRANCE, P. et VILLENEUVE, J.-P. (1995b). *The effect of an anionic surfactant on the mobilization and biodegradation of PAHs in a creosote-contaminated soil*. Hydrological Science - Journal - des sciences hydrologiques, 40, (4), August, 471-484.

EDGEHILL, R.U. (1996). *Degradation of pentachlorophenol (PCP) by Arthrobacter strain ATCC 33790 in biofilm culture*, Water Research, 30, (2), 357-363.

EDWARDS, D.A., ADEEL, Z. et LUTHY R.G. (1994). *Distribution of nonionic surfactant and phenanthrene in a sediment/aqueous system*, Environmental and Science Technology, 28, (8), 1550-1560.

ELLIS, W.D., PAYNE, J.R. et McNABB, G.D. (1985). *Treatment of contaminated soils with aqueous surfactants*. EPA-600/2-85-129, U.S. EPA, Cincinnati, Ohio.

FEWSON, C.A. (1988). *Biodegradation of xenobiotics and other persistent compounds: the causes of recalcitrant*. TIBTECH, 6, 148-153.

FOGLER, S.H. (1992). Elements of chemical reaction engineering, 2<sup>e</sup> éd., Prentice-Hall, inc., Simon & Schuster Company, Englewood Cliffs, New Jersey, 838.

FOUNTAIN, J.C., KLIMEK, A., BEIKIRCH, M.G. et MIDDLETON, T.M. (1991). *The use of surfactants for in situ extraction of organic pollutants from a contaminated aquifer*. Journal of Hazardous Materials, 28, 295-311.

GALIL, N. (1994). *Comparative study evaluating removal mechanisms of hydrocarbons by fixed film versus suspended growth reactors*, Water Science Technology, 29, (10-11) 531-535.

GEBEFÜGI, H., PARLAR, H. et KORTE, F. (1979). *Occurrence of pentachlorophenol in enclosed environments*. Ecotoxicology and Environmental Safety, 3, 269-300.

GILMAN, L. (1993). *A review of instruments for static and dynamic surface and interfacial tension measurement*. 84<sup>th</sup> AOCS Annual Meeting and Expo, Anaheim, CA April 27.

GOULET, P. (1995). Développement d'une technique d'immobilisation des sols activés pour le traitement des eaux riches en pentachlorophénol, Projet de fin d'études, École Polytechnique de Montréal, Canada.

GRIMBERG ,S.J. et AITKEN, M.D. (1995). *Biodegradation kinetics of phenanthrene solubilized in surfactant micelles*, Microbial process for bioremediation, édité par Hichee, Brockman et Vogel, Battelle Press, 3, (8), 59-66.

GRUBB, D.G. et SITAR, N. (1995). Review of technologies for in situ cleanup of DNAPLs. Geotechnical Special Publication, ASCE, New York, NY, USA 1646-1662.

GUHA, S. et JAFFÉ, P.R. (1996). *Biodegradation kinetics of phenanthrene partitioned into the micellar phase of nonionic surfactants*. Environment Science Technology, 30, (2), 605-611.

HALE, D.D., REINEKE, W. et WIEGEL J. (1994). *Chlorophenol degradation. Biological degradation and bioremediation of toxic chemicals*. G. Rasol Chaudry, Portland Oregon, Diosconides Press, 515.

HOOS, R.A.W. (1978). Pattern of pentachlorophenol usage in Canada - an overview. Pentachlorophenol: Chemistry, Pharmacology, and Environmental Toxicology. K.R.Rao (éd), Plenum Press, New York, 3-11.

HULING, S.G. et WEAVER, J.W. (1991). *Dense nonaqueous phase liquids*. EPA Ground Water Issue, march, EPA/540/4-91-002.

JONES, P.A. (1981). *Les chlorophénols et leurs impuretés dans l'environnement canadien*. Ministère de l'Environnement. Rapport SPE 3-EC-81-2F.

JONES, P.A. (1983). *Les chlorophénols et leurs impuretés dans l'environnement canadien, supplément*. Ministère de l'Environnement. Rapport SPE 3-EP-84-3F.

KARAMANEV, D.G., CHAVARIE, C., SAMSON, R. (1996a). *Soil immobilization: A new concept for biotreatment of soil contaminants*. Biotechnology and Bioengineering, soumis.

KARAMANEV, D.G., CHAVARIE, C., SAMSON, R. (1996b). *Hydrodynamics and mass transfer in an airlift reactor with a semipermeable draft tube*. Chemical Engineering Science, 51, (7), 1173-1176.

KARAMANEV, D.G., CHAVARIE, C., SAMSON, R. (1996c). Hydrodynamic and mass transfer study of the immobilized soil bioreactor. 5<sup>TH</sup> World Congress of Chemical Engineering, San Diego, July 1996.

KARAMANEV, D.G., CHAVARIE, C., SAMSON, R. (1996d). Pentachlorophenol mineralization in an immobilized soil bioreactor. 5<sup>TH</sup> World Congress of Chemical Engineering, San Diego, July 1996.

KARAMANEV, D.G., CHAVARIE, C., SAMSON, R. (1995). Hydrodynamic study of the immobilized soil bioreactor. AIChE Annual Meeting, 12-17 Novembre, Miami Beach, Florida.

KARAMANEV, D.G. et NIKOLOV, L.N. (1991). *A comparison between the reaction rates in biofilm reactors and free suspended cells bioreactors*. Bioprocess Engineering, 6, 127-130.

KAUFMAN, D.P. (1977). Degradation of pentachlorophenol in soils, and by soil microorganisms. In: Pentachlorophenol: Chemistry, Pharmacology, and Environmental Toxicology. K.R.Rao (éd), Plenum Press, New York, 27-39.

KIRSH, E.J. et ETZEL J.E. (1973). *Microbial decomposition of pentachlorophenol*. Journal of Water Pollution Control, 45, (2), 359-364.

KUDOH, M. (1984). *Separation of Alcohol Ethoxylates by High-Performance Liquid Chromatography*. Journal of Chromatography, 291, 327-330.

LAHA, S. et R.G. LUTHY (1992). *Effects of nonionic surfactants on the solubilization and mineralization of phenanthrene in soil-water systems*. Biotechnology and Bioengineering, 40, 551-557.

LAHA, S. et R.G. LUTHY (1991). *Inhibition of phenanthrene mineralization by nonionic surfactants in soil-water systems*. Environmental Science and Technology, 25, 1920-1930.

LEVENSPIEL, O. (1972). Chemical Reaction Engineering, 2<sup>e</sup> édition, John Wiley & Sons.

LEWIS, D.L., KOLLING, H.P. et HODSON R.E. (1986). Applied and Environmental Microbiology, 51, 598-603.

LIPE, M.K., SABATINI, D.A., HASEGAWA, M.A. et HARWELL, J.H. (1996). *Micellar-enhanced ultrafiltration and air stripping for surfactant-contamination separation and surfactant reuse*. Ground Water Monitoring Remediation, winter 96, 85-92.

MAKI, H., MASUDA, N., FUJIWARA, Y., IKE, M. et FUJITA, M. (1994). *Degradation of alkylphenol ethoxylates by Pseudomonas sp. strain TR01*. Applied and Environmental Microbiology, 60, (7), 2265-2271.



MARTEL, R., GELINAS, P., DESNOYERS, J.E. et MASSON, A. (1993). *Phase diagrams to optimize surfactant solutions of oil and DNPL recovery in aquifers*. Ground Water, **31**, (5), 789-800.

MIDDAUGH, D.P., RESNICK, S.M., LANTZ, S.E., HEARD, C.S. et MUELLER, J.G. (1993). *Toxicological assessment of biodegraded pentachlorophenol: Microtox and Fish embryos*. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, **24**, 165-172.

MINISTÈRE DE L'ENVIRONNEMENT DU QUÉBEC (1989). *Direction des substances dangereuses. L'industrie du traitement chimique (préservation et protection) du bois au Québec en 1987*. 58.

MOOS, L.P., KIRSCH, E.J., WUKASCH, R.F. et GRADY, C.P.L. Jr. (1983). *Pentachlorophenol biodegradation - I: Aerobic*. Water Research, **17**, (11), 1575-1584.

MUELLER, J.G.; MIDDAUGH, D.P.; LANTZ, S.E. et CHAPMAN, P.J. (1991). *Biodegradation of creosote and pentachlorophenol in contaminated ground water: Chemical and biological Assessment*. Applied and Environmental Microbiology, **57**, 11277-1285.

NASH J. et TRAVER, R.P. (1986). *Field evaluation of in-situ washing of contaminated soils with water/surfactants. In land disposal, remedial action, incineration and treatment of hazardous waste*. Procedure of the 12<sup>th</sup> Annual Research Symposium, EPA 600/9-86-022, Cincinnati, Ohio, 208-217.

NICHOLS, W.W.. (1989). *Susceptibility of biofilms to toxic compounds*, in: Structure and function of biofilms, éditeurs: W.G. Characklis et P.A. Wilderer, John Wiley & Sons Ltd, S. Bernhard, Dahlem Konferenzen, 1989, 321-331.

NYER, E., KIDD, D.F., PALMER P.L., CROSSMAN, T.L., FAM, S., JOHNS II, F.J., BOETTCHER, G et SUTHERSAN, S.S. (1996). In situ tretment technology, Lewis Publisher, 352.

OTTE, M.-P., GAGNON, J., COMEAU, Y., MATTE, N., GREER, C.W. et. SAMSON, R. (1994) *The activation of an indigenous microbial consortium for bioaugmentation of pentachlorophenol/creosote contaminated soils*. Applied and Environemental Biotechnology, 40, 926-932.

PARK, J.W. et JAFFÉ (1995). *Phenanthrene removal from soil slurries with surfactant-treated oxides*. Journal of Environmental Engineering, June, 430-437.

PARKINSON, M. (1985). *Bio-surfactants*, Biotechnology Advances, 3,65-83.

PATOCZKA, J et PULLIAM, G.W. (1990). *Biodegradation and secondary effluent toxicity of ethoxylated surfactants*. Water Research, 24, (8), 965-972.

PAUL, E.A. et CLARK, F.E. (1989). Soil microbiology and biochemistry. Academic Press, Inc. San Diego, Ca, 49-72.

PELCZAR, M.J., CHAN, E.C.S. et FONTAINE J. (1982). Éléments de microbiologie. Éditions HRW Itée, Montréal, 515.

PIRT, J.S. (1975). Principles of microbe and cell cultivation, Hallsted Press, John Wiley & Sons, N.Y., 274.

PROVIDENTI, M.A., LEE, H., TREVORS, J.T. (1993). *Selected factors limiting the microbial degradation of recalcitrant compounds*. Journal of Industrial Microbiology, 12, 379-395.

RAJPUT, V.S., HIGGINS, A.J. et SINGLEY, M.E. (1994). *Cleaning of excavated soil contaminated with hazardous organic compounds by washing*. Water Environment Research, 66 819-827.

ROLLIN, A. L. (1994). *Method of testing geotextile and geomembrane, the normal water permeability of geotextile under load*, Can/CGSB-148.1 No 4-94.

ROSEN, M.J. (1978). Surfactants and Interfacial phenomena. John Wiley and Sons, Inc., New York, NY. 304.

ROUSE, J.D., SABATINI, D.A., SUFLITA, J.M. et HARWELL, J.H. (1994). *Influence of surfactants on microbial degradation of organic compounds*. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 24, (4), 325-370.

RUTGERS, M., BOGTE, J.J., BREURE, A.M. et VAN ANDEL J.G. (1993). *Growth and enrichment of pentachlorophenol-degrading microorganisms in the nutristat, a substrate concentration-controlled continuous culture*. Applied and Environmental Microbiology, 59, (10), 3373-3377.

SAWYER, C.N., McCARTY P.L. et PARKIN G.F. (1994). Chemistry for environmental engineering, 4e édition, McGraw-Hill inc., New York, NY, 658.

SCHICK, M.J. (1967). Nonionic surfactants. Lever Brothers Co. Edgewater, New Jersey, 1085.

SCHMITT, T.S. (1992). Analysis of surfactants. Surfactant Science Series. 40, Marcel Dekker, Inc, New York, 464.

SCHWARZENBACH, R.P., GSCHWEND, P.M. et IMBODEN, D.M. (1993). Environmental Organic Chemistry, John Wiley & Sons, New York.

SEECH, A.G., TREVORS, J.T. et BULMAN, T.L. (1991). *Biodegradation of pentachlorophenol in soil: the response to physical, chemical, and biological treatments*. Canadian Journal of Microbiology, 37, 440-444.

SEIGLE-MURANDI, F., STEIMAN, R. et BENOIT-GUYOD, J.L. (1991). *Biodegradation potential of some micromycetes for pentachlorophenol*. Ecotoxicology and Environmental Safety, 21, 290-300.

STANIER, R.Y., INGRAHAM, J.L., WHEELIS, M.L. et PAINTER, P.R. (1986). The microbial world, 5e édition, Prentice-Hall, Englewood Cliffs, N.J., 689.

STINSON, M.K., SKOVRONEK, H.S. et ELLIS, W.D. (1992). *EPA SITE demonstration of the BioTrol soil washing process*. Journal of Air and Waste Management Association, 42, (1), 96-103.

TIEHM, A. (1994). *Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the presence of synthetic surfactants*. Applied and Environmental Microbiology, 60, 258-263.

THIBAUT, S.L., ANDERSON, M. et FRANKENBERGER, W.T. Jr. (1996). *Influence of surfactants on pyrene desorption and degradation in soils*. Applied and Environmental Microbiology, Jan, 283-287.

TOBIA, R.J., CAMACHO, J.M., AUGUSTIN, P. et GRIFFITHS, R.S., FREDERICK, R.M. (1994). *Washing studies for PCP and creosote-contaminated soil*. Journal of Hazardous Materials, 38, 145-161.

VIGON, B.W. et RUBIN, A.J. (1989). *Practical considerations in the surfactant-aided mobilization of containants in aquifers*. Journal of Water Pollution Control, 61, 1233-1240.

VOLKERING, F., BREURE, A.M., VAN ANDEL, J.G. et RULKENS, W.H. (1995). *Influence of nonionic surfactants on bioavailability and biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons*. Applied and Environmental Microbiology, 61, (5), 1699-1705.

WANNER, O., CUNNINGHAM, A.B. et LUNDMAN R. (1995). *Modeling biofilm accumulation and mass transport in a porous medium under high substrate loading*, Biotechnology and Bioengineering, 47, 703-712.

# Annexes

**Annexe A: Fiche signalétique du Witconol SN 70**

Classe:	Alkoxy alcool linéaire
Apparence à 25°C	Liquide claire incolore à jaune pâle
Pourcentage d'humidité	0,2 (maximum)
pH (1% aqueux)	6,0 à 7,0
Masse volumique (4°C)	0,98 g/ml
Pression de vapeur (20°C)	- < 1 mm Hg
Solubilité aqueuse (25°C)	modérée

## **Annexe B: Caractérisation du sol**

### **Analyse granulométrique**

La granulométrie d'un sol est déterminée par les méthodes ASTM D 422, D421, E11 et E100, le résultat final est porté sur un graphique du pourcentage de passant en fonction de la grosseur des particules. Cette granulométrie a été effectuée par M. Antonio Gatien du département de génie minéral de l'École Polytechnique de Montréal.

La quantification de la distribution des particules dans les sols est réalisée en deux étapes principales. La distribution de la grosseur des particules plus grandes que 75  $\mu\text{m}$  (retenue par un tamis no 200) est déterminée par tamisage, tandis que la distribution de la grosseur des particules plus petites que 75  $\mu\text{m}$  est déterminée par un procédé de sédimentation utilisant un hydromètre.

### **Quantification du PCP et des HAP**

La quantité de PCP et de HAP dans le sol utilisé pour les diverses expériences a été déterminée selon les protocoles standards du Ministère de l'Environnement et de la Faunes, par le laboratoire accrédité Eco-CNFS de Montréal.

La méthode d'extraction du PCP employée s'effectue par le système Soxhlet. Le solvant utilisé est le dichlorométhane et le temps d'extraction est de 16 heures. Afin de faciliter la quantification du PCP, un lavage base/acide est effectué afin de séparer le PCP de l'extrait organique. La procédure de ce lavage peut se résumer en six étapes principales:

- 1) 3 extractions basiques (30/30/20 ml) avec une solution de  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (0,1M); 2) La



recupération de la fraction aqueuse suivi d'un ajout de 20 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (0,5M); 3) 3 nouvelles extractions au  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (50/40/30 ml); 4) La concentration de la fraction organique contenant le PCP par évaporation et finalement 5) L'analyse de la fraction organique par chromatographie gazeuse (GC/MS).

Par la suite, afin de faciliter la quantification des 16 HAP prioritaires, un fractionnement permet d'éliminer les interférences de l'échantillon. Ce dernier s'effectue en 8 grandes étapes principales: 1) La concentration de la phase organique (mise de côté lors du lavage base/acide) à l'aide d'un concentrateur Kuderna Danish; 2) La préparation de la colonne de fractionnement en utilisant 10 g de FLORISIL activé; 3) L'ajout de 1 cm de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  sur le dessus de la colonne pour l'assèchement de l'échantillon; 4) L'échantillon concentré est déposé sur la colonne de FLORISIL; 5) Le tout est recouvert de FLORISIL; 6) L'élution avec 85 ml d'une solution de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (20%) dans de l'hexane; 7) La concentration de la dernière fraction éluee et finalement; 8) L'analyse su GC/MS.

## **Annexe C: Concentration des échantillons par colonne d'extraction en phase solide**

La méthode de concentration utilisée est la colonne d'extraction en phase solide en phase inverse. Les analytes non polaires à modérément polaires, tels que le Witconol SN 70, sont extraits d'une solution par un absorbant non polaire. L'absorbant utilisé est un octadécyl ( $C_{18}$ ).

Pour l'application des différents solvants, de même que pour l'échantillon, il est préférable de laisser le liquide s'écouler à pression atmosphérique, i.e. sans lui imposer une vitesse plus rapide.

La colonne a d'abord été conditionnée avec 3 ml de méthanol; le temps requis pour cette étape est d'environ 20 minutes. Par la suite, 3 ml d'eau sont ajoutés à la colonne à pression atmosphérique. Le temps requis pour l'écoulement de l'eau est d'environ 30 minutes. Il est très important de conserver l'absorbant mouillé durant le conditionnement.

Avant d'appliquer l'échantillon à concentrer, ce dernier a été filtré avec un filtre Millipore en Teflon™ de 0,45  $\mu\text{m}$ . L'échantillon filtré a été déposé dans un bécher, puis la quantité nécessaire a été recueillie à l'aide d'une pipette. Afin de pouvoir mettre tout l'échantillon au même moment, un réservoir muni d'un adaptateur a été posé sur la colonne de concentration. L'écoulement de l'échantillon se fait également à pression atmosphérique. Par la suite, la colonne a été nettoyée avec 3 ml d'eau, en laissant l'eau s'écouler à pression atmosphérique.

L'analyte a été élué avec 2 ml d'acétonitrile. Chaque millilitre injecté a été récupéré dans une fiole en verre pour en effectuer l'analyse au HPLC.

## **Annexe D: Méthode d'essai des géosynthétiques: perméabilité à l'eau dans un sens normal sans charge de compression (CAN/CGSB-148.1 No 4-94)**

Cette méthode permet de déterminer la perméabilité à l'eau des géotextiles tissés, tricotés et non tissés dans un sens normal au plan des géotextiles, sans charge de compression. Elle consiste à déterminer la perméabilité à l'eau dans un sens normal d'un géotextile ( $k_n$ ) en mesurant le débit d'eau, dans un sens normal, traversant une section connue du géotextile à des gradients hydrauliques constants et prédéterminés; et la permittivité ( $\psi$ ) en mesurant le débit volumétrique de l'eau dans un sens normal à une section connue du géotextile à des charges hydrauliques constantes et prédéterminées.

L'appareillage utilisé pour effectuer les essais de perméabilité normale, illustré à la figure B, doit pouvoir maintenir une charge hydraulique constante sur le géotextile mis à l'épreuve. Cet appareil se compose essentiellement d'un cylindre (1) et d'un support (2) qui s'assemblent l'un à l'autre. Le spécimen du géotextile est positionné dans l'ouverture du support et immobilisé par un anneau de retenue (3) qui s'emboîte parfaitement dans la même ouverture. Toutes les pièces doivent être étanches à l'eau.

La courbe du débit par unité de surface ( $Q/A$ ) en fonction du gradient hydraulique ( $i = h/t_0$ ) est tracée, pour chacun des spécimens étudiés. La partie linéaire initiale de la courbe indique la région où la loi de Darcy s'applique. Le calcul du coefficient de perméabilité à l'eau ( $k_n$ ) dans un sens normal pour chacun des spécimens se fait à l'aide de l'équation suivante:

$$k_n = \frac{QR_t t_0}{A\Delta h} \text{ pour de l'eau à } 20^\circ\text{C}$$

dans laquelle:  $k_n$  = perméabilité normale (m/s)

$Q$  = débit d'eau traversant le spécimen ( $m^3/s$ )

$A$  = aire de surface du spécimen de géotextile ( $m^2$ )

$t_0$  = épaisseur nominale du géotextile (m)

$\Delta h$  = charge hydraulique (m)

$R_t$  = facteur de correction en fonction de la température conforme à la figure C

Enfin, la valeur de la permittivité du géotextile ( $\psi = s^{-1}$ ) se calcule selon l'équation suivante:

$$\psi = \frac{QR_t}{A\Delta h}$$

La justesse du mode opératoire de la présente méthode peut varier entre 10 et 50% en raison des fluctuations des caractéristiques des géotextiles.

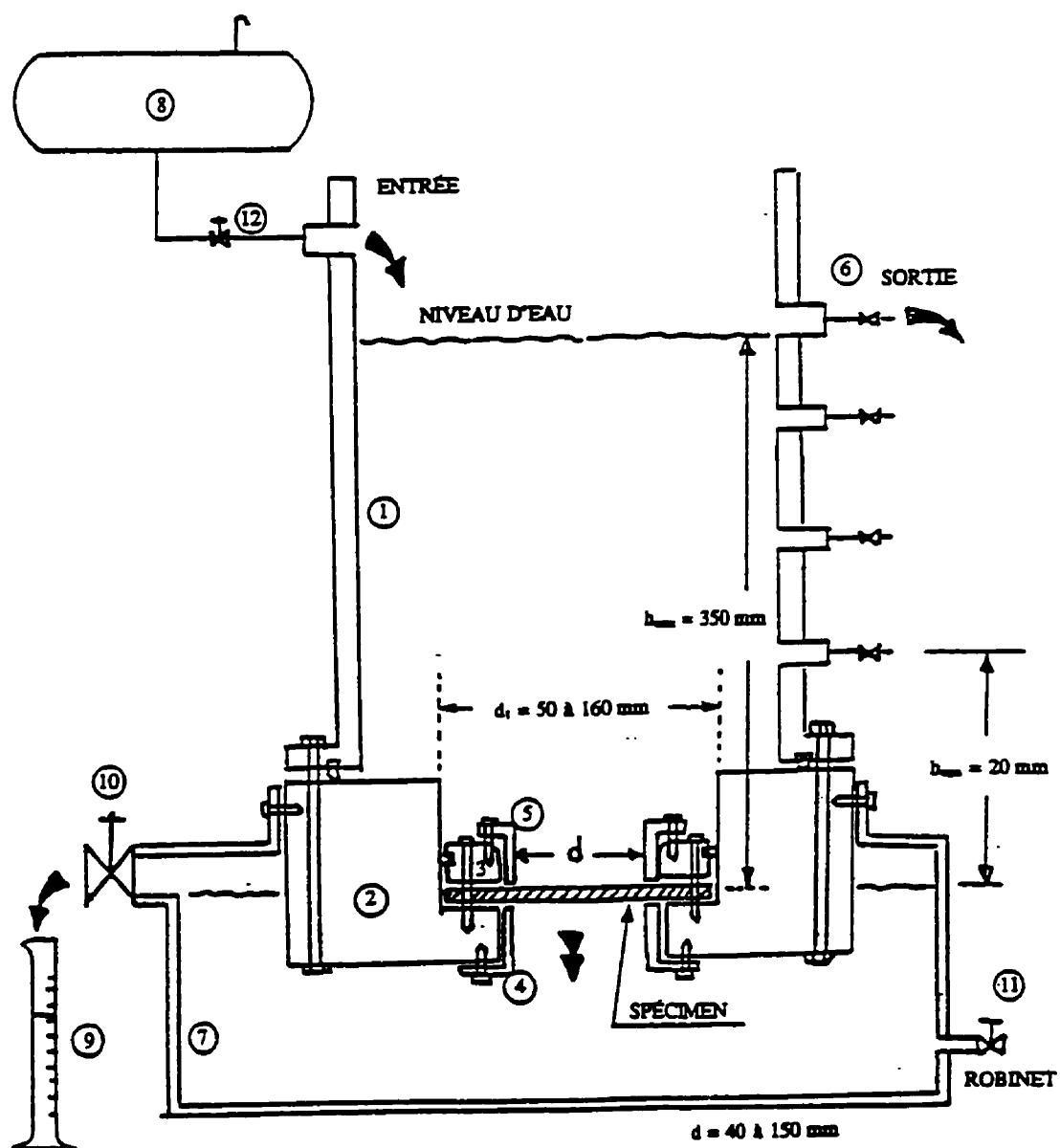


Figure B: Schéma de l'appareillage d'essai

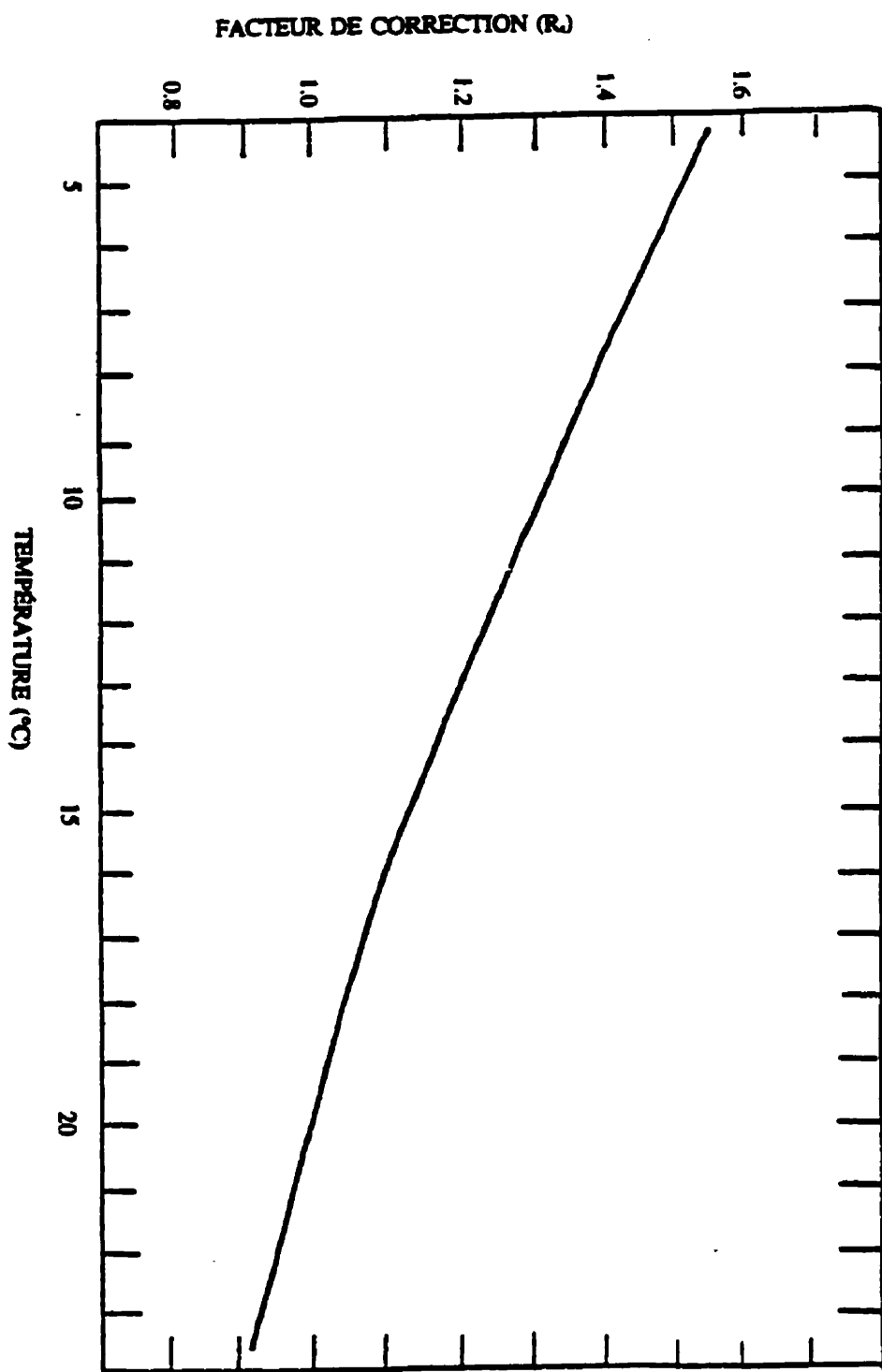
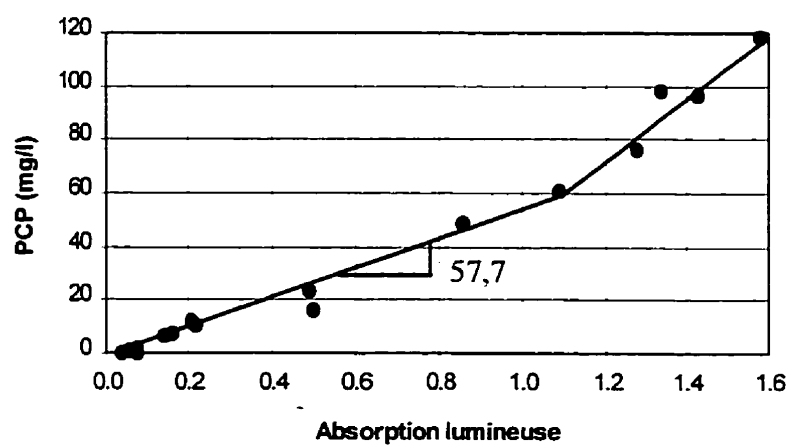
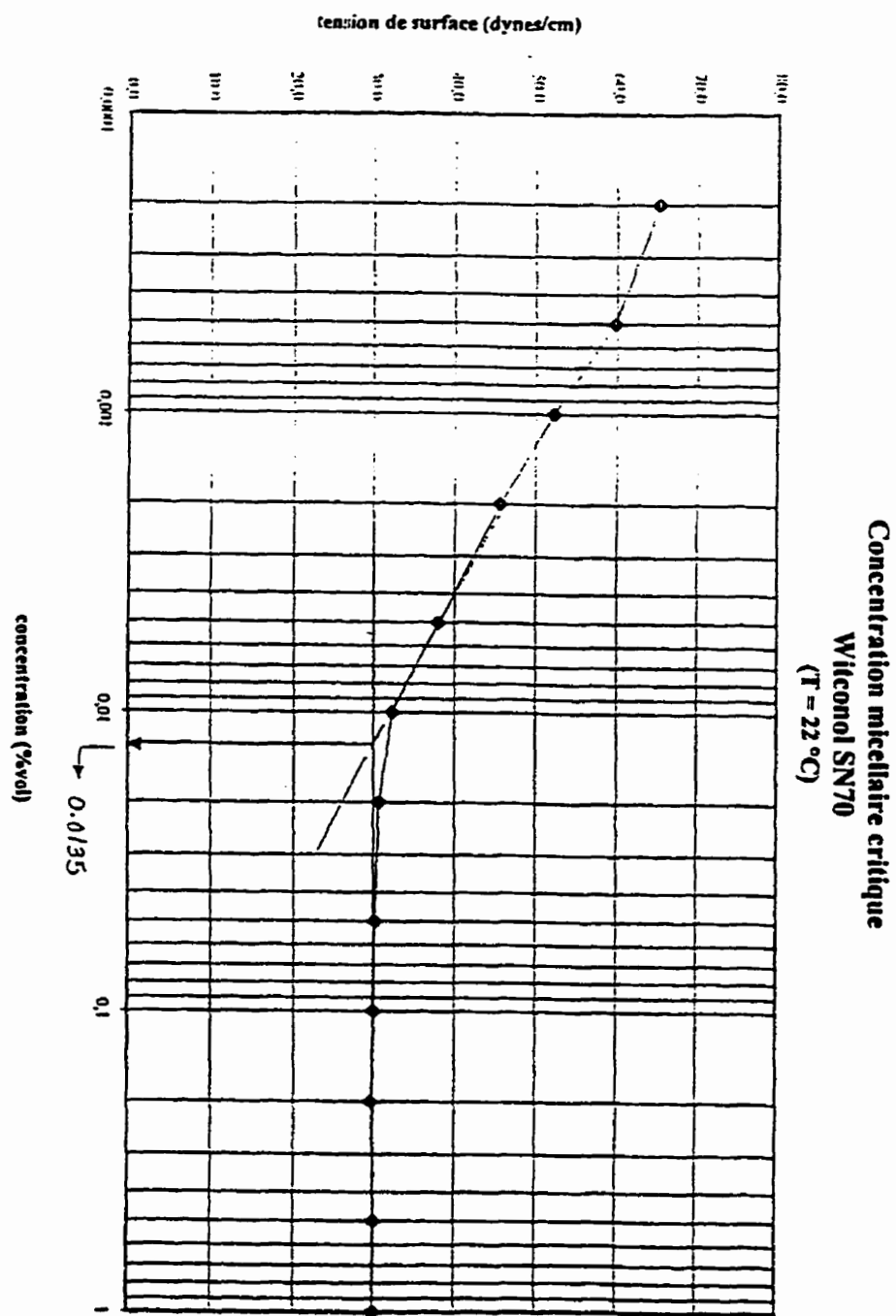


Figure C: Facteur de correction  $R_t$  en fonction de la température

**Annexe E: Courbe de calibration du spectrophotomètre**

**Annexe F: CMC du Witconol SN 70, lot #TK67-217**



## **Annexe G: La problématique de la mousse**

Une problématique apparaît dans la mise en oeuvre du bioréacteur, il s'agit de l'apparition d'une mousse abondante lorsque le Witconol SN 70 est mis en contact avec une aération continue, telle que celle présente dans les bioréacteurs. Il est donc primordial de diminuer voire d'enrayer cette production de mousse, lorsque le bioréacteur est utilisé en mode cuvée. L'aération est un des paramètres principaux caractérisant le bioréacteur à sol immobilisé. La mousse en soit ne consiste pas un obstacle, mais le fait qu'il y ait entraînement des contaminants pose problème. En effet, une étude de Lipe (1996) a montré qu'il y a entraînement des contaminants par les surfactants (mousse) et que plus la concentration en surfactant augmente, plus la séparation contaminant-surfactant diminue. De même, ils montrent que cet effet augmente en présence d'un contaminant à caractère hydrophobe et d'un surfactant à grand potentiel de solubilisation.

Une façon d'enrayer ce problème est l'ajout d'un antimoissant au procédé. Une recherche auprès des différents fabricants québécois d'antimoissants nous a amené à sélectionner trois produits de la compagnie Union Carbide à Montréal. Les caractéristiques de chacun sont listées au Tableau A.

Des expériences qualitatives en colonne cylindrique de deux litres ont servis à choisir parmi les trois antimoissants. Un litre d'une solution de Witconol SN 70 concentrée à 6750 mg/l a été mise à buller dans un cylindre de deux litres. Dès l'apparition d'une quantité suffisante de mousse (hauteur d'environ 6 cm), une goutte d'antimoissant a été ajoutée à l'aide d'une pipette pasteur. Les observations faites sont qualitatives seulement.

**Tableau A: Caractéristiques des antimoissants sélectionnés**

<b>Antimoissants (nom commercial)</b>	<b>Caractéristiques</b>
SAG 10	<ul style="list-style-type: none"> <li>* Émulsion de polydiméthylsiloxane</li> <li>* Densité: 0,98 g/ml à 25 °C</li> <li>* Liquide blanc et opaque très visqueux</li> </ul>
SAG 2001	<ul style="list-style-type: none"> <li>* Émulsion de polydiméthylsiloxane</li> <li>* Densité: 0,97 à 25 °C</li> <li>* Liquide blanc et opaque très visqueux</li> </ul>
KLAMAX 100	<ul style="list-style-type: none"> <li>* Organosilicone liquide</li> <li>* Densité: 1,01</li> <li>* Liquide translucide et très visqueux</li> </ul>

Des expériences qualitatives en colonne cylindrique de deux litres ont permis de choisir le SAG 10, parmi les trois antimoissants sélectionnés au Tableau A, comme étant l'antimoissant le plus stable. Les observations sont présentées au Tableau B. Toutefois, l'antimoissant doit être ajouté de façon continue dans le bioréacteur car son efficacité diminue dans le temps. Afin de permettre des manipulations plus précises, il est nécessaire de diluer le SAG 10 dans de l'eau distillée, à cause de sa trop grande viscosité. Une dilution de 1/100 (p/v) est utilisée.

**Tableau B: Observations qualitatives pour le choix d'un antimoissant**

<b>Antimoissant</b>	<b>SAG 10</b>	<b>SAG 2001</b>	<b>KLAMAX 100</b>
<b>Observations suite à l'ajout de 2 gouttes</b>	Diminution importante de la quantité de mousse produite à une épaisseur d'environ 4 cm	Diminution importante de la quantité de mousse produite à une épaisseur d'environ 7 cm	Aucune modification dans le débit de mousse produite => Arrêt de l'expérience
<b>Bullage durant environ 2 heures</b>	Épaisseur de la mousse stable à environ 4 cm	Augmentation de l'épaisseur de la mousse jusqu'à débordement hors du cylindre	
<b>Bullage durant une nuit</b>	Épaisseur de la mousse augmente après un certain temps de latence		

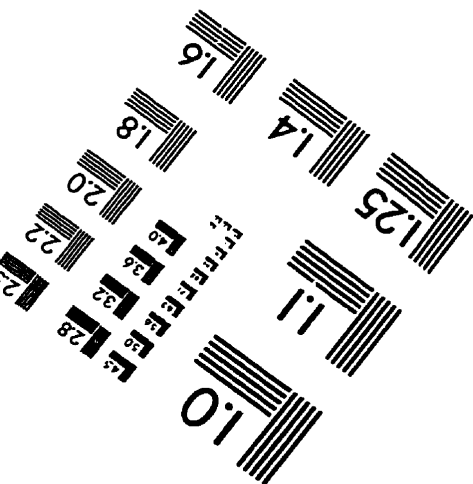
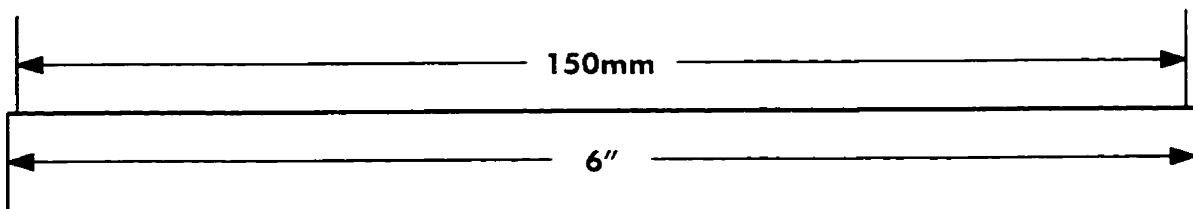
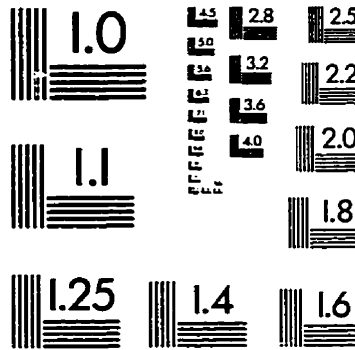
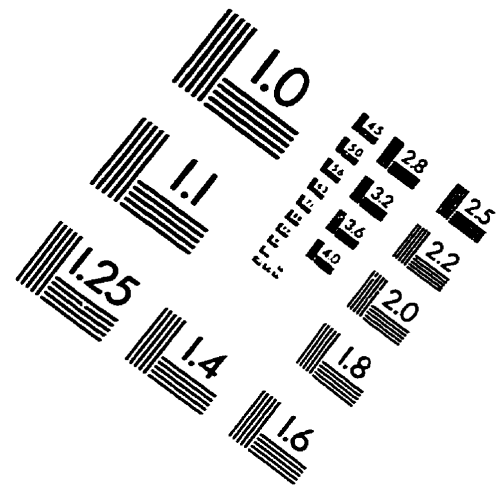
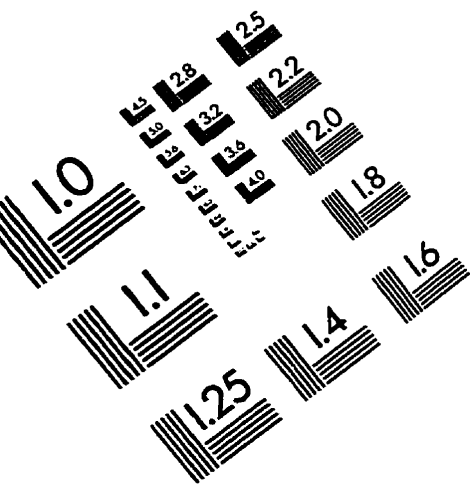
Étant donné que la présence d'un antimoissant, par définition, change la tension de surface du liquide, lors des expériences de biodégradation, aucun ajout de SAG 10 ne sera fait.

En effet, la présence d'antimoissant dans le procédé amène deux grandes questions. La première porte sur la compétitivité que peut entraîner la présence d'antimoissant lors de la biodégradation, et la seconde porte sur le suivi de la biodégradation par tensiométrie.

En effet, dû à l'insuccès de la méthode de concentration du Witconol SN 70, le suivi de la biodégradation du bioréacteur se fait principalement par tensiométrie. De plus, lors de la mise en continu du bioréacteur, on observe une diminution frappante de la mousse. Ceci

s'explique par le fait que le Witconol SN 70 est dégradé dès qu'il entre en contact avec les microorganismes dégradeurs présents dans le bioréacteur. De plus, une diminution du débit d'air (1500 cc/min/l à 150 cc/min/l) permet de diminuer la quantité de mousse formée dans le bioréacteur.

# IMAGE EVALUATION TEST TARGET (QA-3)



APPLIED IMAGE, Inc.  
1653 East Main Street  
Rochester, NY 14609 USA  
Phone: 716/482-0300  
Fax: 716/288-5989

© 1993, Applied Image, Inc., All Rights Reserved

